

EXPERIENTIA



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:

P. HUBER · R. MATTHEY · A. v. MURALT · L. RUZICKA
Basel Lausanne Bern Zürich

Redactor: H. MISLIN, Basel-Mainz

BIRKHÄUSER VERLAG BASEL

SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

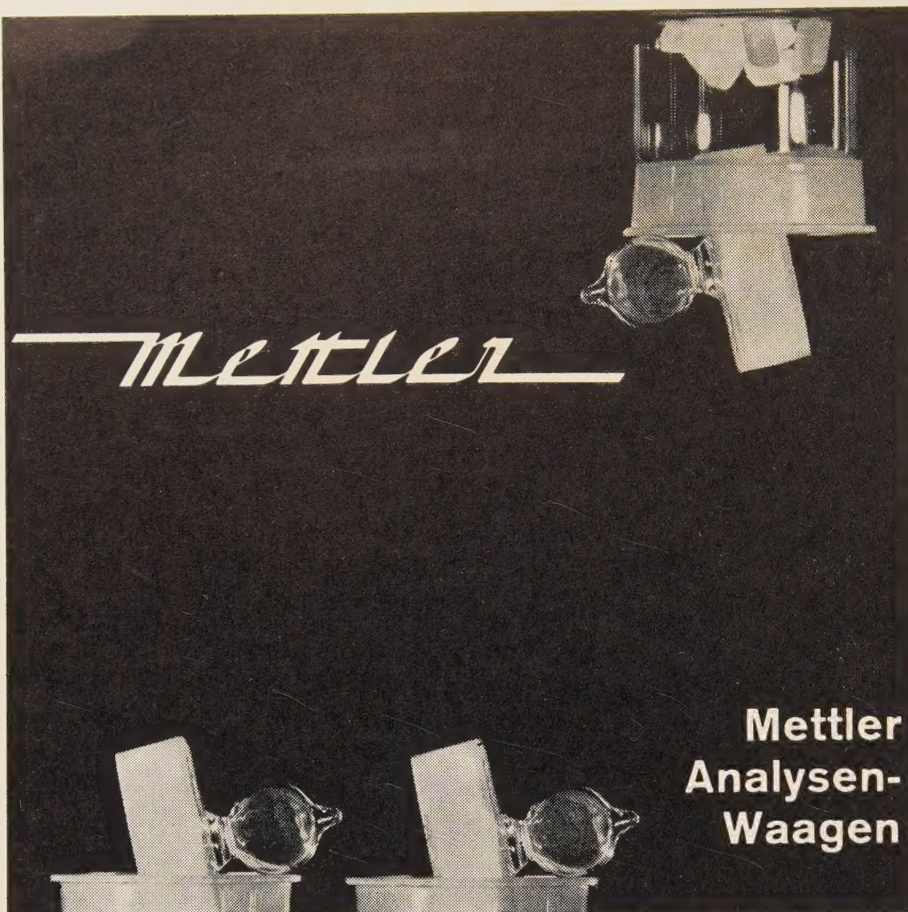
H. LABHART: Magnetische Kernresonanz in der Chemie 41

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

- A. SEGRE and R. VITERBO: N-Alkylation by Means of Esters. A New Use of Lithium Aluminium Hydride 54
A. J. RUTGERS and W. VAN DEN HEUVEL: Surface Exchange Adsorption between Precipitates of BaSO_4 and Solutions of BaCl_2 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 , CsCl , NaCl , and Na_2CrO_4 55
P. HEMMERICH, S. FALLAB und H. ERLNMEYER: Metallchelate des Picolinaldehyds 56
H. PLIENINGER: Prephensäure als mögliche biologische Vorstufe von Indolderivaten (Disputandum) 57
E. E. SHULT: The Hypothesis of Chromatid Interference 58
H. RÖCKERT and R. L. DE C. H. SAUNDERS: A Microradiographic Study of Ovarian Dermoid Teeth 59
K. NAGUIB: Effect of Riboflavin and Nicotinic Acid on Fat Formation by *Penicillium lilacinum* Thom. 61
F. ANDERS: Aminosäuren als gallenerregende Stoffe der Reblaus (*Viteus* [*Phylloxera*] *vitifolii* Shimer) 62
D. BAGDY und I. BANGA: Über Adsorption von Elastase an synthetischem Natriumaluminiumsilikat 64
G. SIEBERT: Aktivität Eiweiss spaltender Enzyme in Fischen 65
L. MAGOS: Role of Catalase in Heinz Body Formation 66
L. MAGOS: Catalase Inhibition by Potassium Chlorate in Red Cells 66
H. P. VON HAHN: Die regionale Verteilung der Katalase-Aktivität im Schwanz von hungernden und gefütterten *Xenopus*larven 67
K. D. DANG et F. CHODAT: Vernalisation de *Linum austriacum* L. par ablation des rameaux latéraux 68
BERTHA SCHÄR und F. W. KAHNT: Unterschiede der Stabilität von Lipopolysacchariden aus *Proteus vulgaris* OX 19 in Serum und Plasma 70
N. C. PANT und N. K. UBEROI: On the Carbohydrate Utilization by the Larvae of *Trogoderma granarium* Everts. (Der-mestidae: Coleoptera) 71
E. SHERWOOD JONES: An *in vitro* Action of Deoxycorticosterone (DOC) on Red Cell Electrolytes 72
A. PLETSCHER: Einfluss von Isopropyl-isonikotinsäurehydrazid auf den Katecholamingehalt des Myokards 73
J. P. NAETS: Erythropoiesis in Nephrectomized Dog 74
E. SCHREIDER: Les variations de Na^+ , Ca^{++} , K^+ et $[\text{H}^+]$ du sang chez l'homme 74
S. BETTINI, G. NATALIZI, and M. BOCCACCI: A Method for the Electrical Stimulation and Registration of the Contractions of an Isolated Skeletal Muscle of *Periplaneta americana* L. (Pro Experimentis) 76
E. C. DOUGHERTY and MARY BELLE ALLEN: The Words 'Protist' and 'Protista' (Disputanda) 78

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

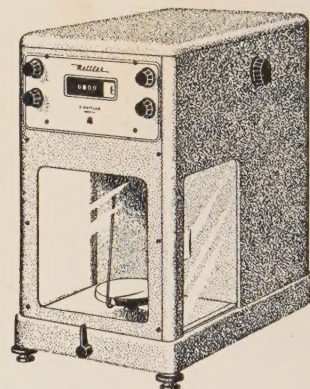
- J. GILLMAN, CHRISTINE GILBERT, E. EPSTEIN, and J. C. ALLAN: Uncoupling of the Disorder of Carbohydrate Metabolism from Fat Metabolism in Experimentally-produced Diabetes in Baboons (*Papio ursinus*) (Studiorum Progressus) 79
Congressus 80



Mettler Analysen- Waagen

E. Mettler
Pelikanstrasse 19
Zürich

**Garantierte
Genauigkeit
Konstante
Empfindlichkeit
Bessere
Reproduzierbarkeit**



A 3

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia XIV/2

Birkhäuser AG., Basel
Ciba A.G., Basel
Farmochimica Cutalo-Calosi S.p.A., Neapel
Ganz & Co., Zürich

J. R. Geigy A.G., Basel
F. Hoffmann-La Roche & Co. A.G., Basel
E. Mettler, Zürich
Sandoz A.G., Basel

*Die EXPERIENTIA kann in folgenden Ländern durch die Post abonniert werden:
Des abonnements pour EXPERIENTIA peuvent être commandés près des bureaux de poste des pays suivants:*

Italien	Belgien, Luxemburg	Dänemark	Schweden	Portugal
Deutschland	Holland	Norwegen	Finnland	Marokko

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Abonnement pour un an Fr. 44.– pour la Suisse; pour l'étranger Fr. 56.–. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Ausland durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 44.–, im Ausland sFr. 56.–.

Insertionspreise: $\frac{1}{1}$ Seite Fr. 220.–, $\frac{1}{2}$ Seite Fr. 132.–, $\frac{1}{4}$ Seite Fr. 77.–. Inseratenannahme durch den Verlag.

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. L'abbonamento annuo è di fr. 44.– per la Svizzera; all'estero sfr. 56.–. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price by annual subscription is sfr. 56.–. Prices in Swiss currency.

Prices for advertising: $\frac{1}{1}$ page fr. 220.–, $\frac{1}{2}$ page fr. 132.–, $\frac{1}{4}$ page fr. 77.–. Advertisements should be sent to the publishers.

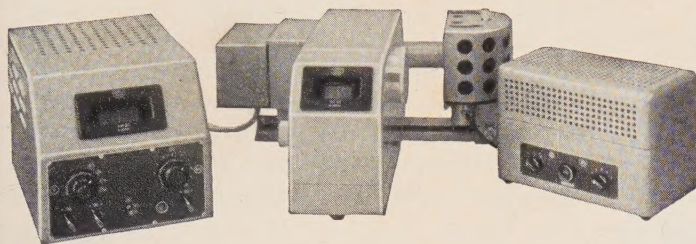
Das neue

ZEISS

Quarz-Spektralphotometer

PMQ II

erfüllt Ihre Wünsche!



Bitte verlangen Sie den ausführlichen Prospekt Nr. 05-657/E

Zuverlässige Beratung und Service durch eigenes Fachpersonal



Generalvertretung für die Schweiz:

Beachten Sie die Vorteile:

- **Direktanzeige** des Meßwertes (ohne Einbuße an Meßgenauigkeit), dadurch Übersicht über das Absorptionsspektrum und Zeitgewinn.
- **Vollständiger Netzbetrieb.** Keine Akkumulatorwartung; jederzeit betriebsbereit.
- **Impulslicht - Wechselstromverfahren.** Dunkelstromeinstellung fällt weg und ebenso der feuchtigkeitsempfindliche Gleichstromverstärker (keine Trocknungspatronen mehr).
- **Meßbereich:** 200-2500 m μ .
- **Höchste Empfindlichkeit** durch Sekundärelektronen-Vervielfacher 1P28 und PbS-Photo-Widerstand.
- **Einfach-Monochromator** mit Quarz- oder Glasoptik oder **Doppel-Monochromator** mit auswechselbarer Quarz- und Glasoptik nach Wunsch.
- **Mikroküvetten** mit nur 0,2 cm³ Füllvolumen pro Zentimeter Schichtlänge.
- **Flammen-, Fluoreszenz-, Remissions- und Chromatogrammsätze.**

GANZ & CO
BAHNHOFSTR. 40
TEL. (051) 23 97 73 *Zürich*

Neuerscheinung

Vom Denken in Begriffen

Mathematik als Experiment des reinen Denkens

von

ALEXANDER ISRAEL WITTENBERG

Professor an der Laval-Universität in Quebec

mit einem Geleitwort von *Paul Bernays*, Professor an der Eidgenössischen Technischen Hochschule in Zürich
Sammlung «Wissenschaft und Kultur» – Band 12

Nirgends wird die Macht und die innere Kohärenz begrifflichen Denkens so schonungslos auf die Probe gestellt wie in der Mathematik. Im mathematischen Grundlagenproblem wird, wie dieses Werk in eingehender Diskussion zeigt, eine echte Problematik menschlichen Denkens offenbar. Die Untersuchung derselben führt zu wesentlichen Einsichten in die Natur und die Grenzen menschlicher Erkenntnis, und damit über den Menschen schlechthin.

Das Buch will neues Licht auf die mathematische Grundlagenforschung werfen. Zugleich wendet es sich an alle, insbesondere Wissenschaftler, Philosophen und Theologen, die sich über die erkenntnismässigen Gegebenheiten des menschlichen Daseins Rechenschaft ablegen wollen.

386 Seiten. In Ganzleinen gebunden Fr. 25.- (DM 25.-)

Bestellungen an Ihren Buchhändler

BIRKHÄUSER VERLAG · BASEL UND STUTTGART

Als Geigy gegründet wurde...

1758

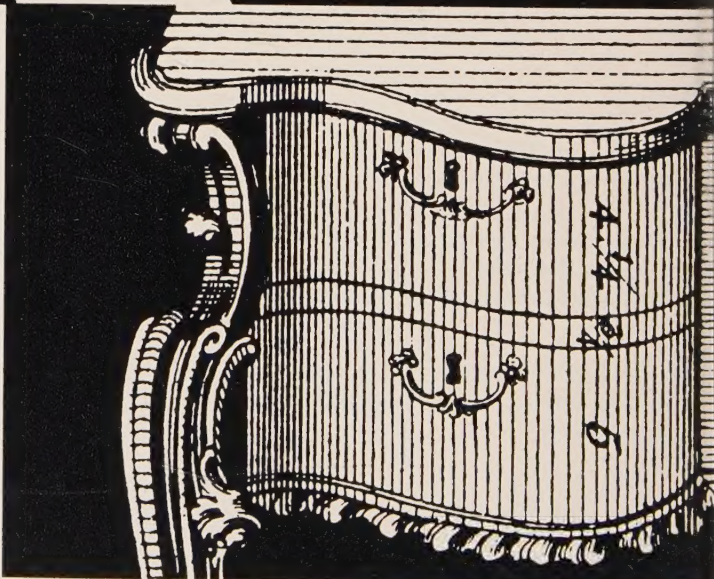
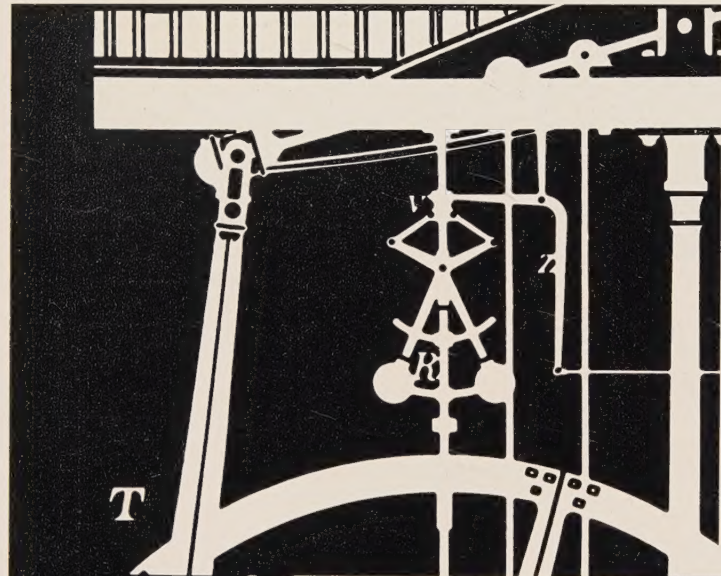
war Rokoko die Mode. In Versailles herrschte die Pompadour. Haydn komponierte, Voltaire und Rousseau schrieben, Goethe und Mozart waren noch Kinder. Ein paar Jahre vorher hatte Benjamin Franklin den Blitzableiter erfunden, ein paar Jahre später baute James Watt die erste Dampfmaschine. Diderot und d'Alembert arbeiteten an der Enzyklopädie, die Universität von San Felipe, in Santiago de Chile, war zwei, die Börsen von Wien und Edinburgh waren fünf Jahre alt. Adam Smith bereitere seine nationalökonomische Lehre vor, England und Frankreich bekämpften sich um den Besitz der überseeischen Gebiete. Krieg herrschte auch zwischen Friedrich II. von Preussen und dem Oesterreich Maria Theresias. Porzellanmanufakturen wurden gegründet, der Zement war soeben erfunden worden, und der Tischler Chippendale hatte einen neuen Möbelstil geschaffen.

1758 wurde eines der ältesten Chemieunternehmen der Welt in der Stadt Basel als ein Geschäft in Chemikalien, Farbwaren und pharmazeutischen Drogen gegründet. Der Name des Gründers war Johann Rudolf Geigy.

Heute, 200 Jahre später, feiert die J. R. Geigy A.G. in Basel zusammen mit den Geigy-Gesellschaften der ganzen Welt, das 200jährige Bestehen dieses Namens. Denn aus dem ursprünglichen Kleinunternehmen ist unterdessen eine in zahlreichen Ländern der Erde niedergelassene Gesellschaft geworden, deren Produkte, wie zum Beispiel die von Geigy geschaffenen DDT-Präparate oder das Wollschuttmittel Mitin, überall bekannt sind.

Die Tätigkeit der Geigy-Gesellschaften erstreckt sich heute auf Farbstoffe, Pigmente und Gerbstoffe, industrielle Chemikalien und Plasticisers, Pharmazeutika und Schädlingsbekämpfungsmittel. Organische Chemikalien höchster Qualität tragen den Namen Geigy.

Jub 1



J. R. Geigy A.G., Basel

200 Jahre

Geigy

Magnetische Kernresonanz in der Chemie

Von H. LABHART, Basel*

I. Einleitung

PURCELL, TORREY und POUND¹ einerseits und BLOCH, HANSEN und PACKARD² andererseits haben im Jahre 1946 unabhängig voneinander gezeigt, wie man Differenzen zwischen verschiedenen Energieniveaus von Atomkernen in einem Magnetfeld an kondensierten Substanzproben messen kann. PURCELL nannte die Methode «Magnetische Kernresonanz» (nuclear magnetic resonance, oft abgekürzt als N.M.R.), während BLOCH ihr den Namen «Kerninduktion» (nuclear induction) verlieh. Die verschiedene Bezeichnung hängt nur mit später zu besprechenden Verschiedenheiten der experimentellen Anordnung zusammen.

Dank der Verfeinerung der Apparate hat KNIGHT³ später bemerkt, dass bei gleichem von aussen angelegtem Magnetfeld gleiche Kerne in chemisch verschiedenen Bindungszuständen etwas verschiedene effektive Magnetfelder erfahren. Dies wurde als ungleiche Abschirmung des äusseren Magnetfeldes durch die je nach Bindungszustand verschiedenen Elektronendichten in der Umgebung der Atomkerne erklärt. Man kann somit die Atomkerne als Sonden zur Erforschung der für die Chemie besonders interessanten Elektronenverteilung in Molekülen benützen. Diese Anwendungsart hat sich in den letzten Jahren als sehr fruchtbar erwiesen.

Die physikalischen Grundlagen und apparativen Einrichtungen der magnetischen Kernresonanz-Spektroskopie sind vielgestaltiger und komplizierter als bei andern in der Chemie verwendeten physikalischen Methoden, zum Beispiel bei der Infrarot- und Ultraviolett-Spektroskopie. Während bei diesen letztgenannten Methoden der Chemiker dank einer Fülle von vorwiegend empirischen Regelmässigkeiten selbst bei spärlicher physikalischer Einsicht oft leicht ein Problem lösen kann, bedarf es bei der magnetischen Kernresonanzspektroskopie in Ermangelung ausgedehnten empirischen Materials einer fundierteren Kenntnis der physikalischen Vorgänge.

Wir versuchen im folgenden, aus der heute recht umfangreichen Theorie der Kernresonanz-Erscheinungen

einen Auszug zu geben, der unter bewusster Weglassung spezifisch physikalischer Fragen gerade so viel in einfacher Form enthält, als für die chemischen Anwendungen nötig ist. Unser Ziel ist, dem Nicht-Physiker eine Übersicht zu ermöglichen und den Zugang zu dieser neuen Technik zu erleichtern. In einem weiteren Abschnitt sollen die Prinzipien der apparativen Einrichtung und der Präparationstechnik kurz beschrieben werden. Darauf illustrieren wir die Anwendungsmöglichkeiten durch eine ausgewählte Zahl von Beispielen aus verschiedenen Problemkreisen der Chemie.

II. Physikalische Grundlagen

a) *Kerneigenschaften.* Besonders wichtig für Kernresonanzexperimente sind Drehimpuls, magnetisches Moment und Ladungsverteilung der Atomkerne.

Der *Drehimpuls* wird gewöhnlich durch die maximale in einer bestimmten Raumrichtung beobachtbare Komponente gemessen und in Einheiten $\hbar/2\pi$ angegeben. ($\hbar$ = Plancksche Konstante). Die Masszahl ist der Kernspin. Sie ist immer ganz- oder halbzahlig. Von den etwa 280 bekannten stabilen Isotopen haben ungefähr die Hälfte keinen Drehimpuls. Die Spins der übrigen liegen zwischen $1/2$ und $9/2$.

Wie beim Elektron ist auch bei den Kernen mit dem mechanischen Drehimpuls immer ein *magnetisches Moment* verbunden. Dieses kann entweder parallel (positives Vorzeichen) oder antiparallel (negatives Vorzeichen) zum mechanischen Drehimpuls orientiert sein. Als Einheit für die Messung von magnetischen Kernmomenten dient gewöhnlich das Kernmagneton

$$\mu_K = \frac{eh}{4\pi m_p c} = 5,047 \cdot 10^{-24} \text{ Gauss cm}^3$$

(e = Elektronenladung; c = Lichtgeschwindigkeit; m_p = Protonenmasse).

Üblicherweise wird unter dem Kernmoment μ die maximale in einer Raumrichtung beobachtbare Komponente des magnetischen Momentes verstanden.

Da schon Neutron und Proton keine halb- oder ganzzahligen magnetischen Kernmomente haben, sind die Momente der Kerne ebenfalls keine einfachen Vielfache des Kernmagnetons. Sie liegen zwischen $-2,1 \mu_K$ und $+5,5 \mu_K$.

* CIBA, Basel und Universität Basel.

¹ E. M. PURCELL, H. C. TORREY und R. V. POUND, Phys. Rev. 69, 37 (1946).

² F. BLOCH, W. W. HANSEN und M. PACKARD, Phys. Rev. 69, 127 (1946).

³ W. D. KNIGHT, Phys. Rev. 76, 1259 (1949).

Für magnetische Kernresonanzversuche ist vor allem das Verhältnis von magnetischem Moment zu Drehimpuls, das heisst der gyromagnetische Faktor

$$g = \frac{\text{magnetisches Moment in Einheiten } \mu_K}{\text{mechanischer Drehimpuls in Einheiten } \hbar/2\pi}$$

wichtig.

Die *Ladungsverteilung* ist nicht bei allen Kernen kugelsymmetrisch. Bei solchen mit Spin $\gg 1$ trifft man meist Ladunganhäufungen an den Polen oder am

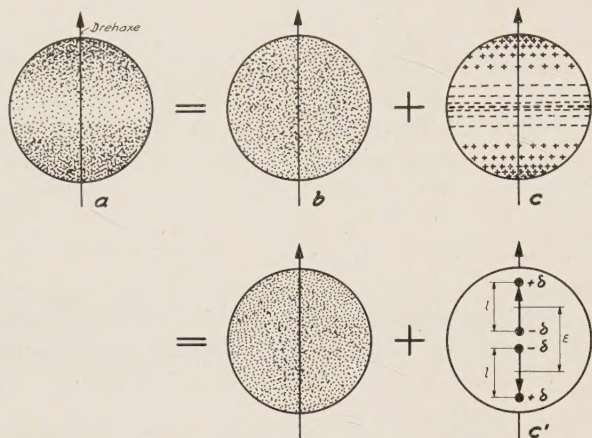


Fig. 1. Zur Beschreibung einer nicht kugelsymmetrischen Ladungsverteilung durch ein Quadrupolmoment.

Äquator. Die Stärke der Abweichung von der Kugelsymmetrie wird durch das elektrische Quadrupolmoment des betreffenden Kerns angegeben. Diese Grösse lässt sich wie folgt veranschaulichen: In Figur

1a sei durch die Dichte der Punkte die Ladungsverteilung in einer nicht kugelsymmetrisch geladenen Kugel angedeutet. Diese Ladungsverteilung kann man sich entstanden denken aus einer homogenen Ladungsverteilung mit gleicher Totalladung (Fig. 1b) und den positiven Ladungskappen $+\delta$ und dem negativen Ladungsgürtel $-\delta$ (Fig. 1c) jeder Hemisphäre. Zieht man diese Zusatzladungen in ihre Schwerpunkte zusammen (Fig. 1c'), so erkennt man besonders leicht, dass sie ein System von zwei antiparallelen Dipolen bilden, einen Quadrupol. Das Quadrupolmoment Q wird gewöhnlich unter Bezug auf die in Figur 1c' eingeführten Grössen definiert als $Q = 4 l \cdot \epsilon \delta$. Wenn die positiven Ladungen beim Äquator liegen und die negativen an den Polkappen, ist $Q = -4 l \epsilon \delta$.

Natürlich kann genau so gut unter Annahme einer homogenen Ladungsverteilung das Quadrupolmoment Q als Mass für die ellipsoidische Deformation des Kerns betrachtet werden. Positive Quadrupolmomente entsprechen dann langgestreckten, negativ abgeplatteten Ellipsoiden. Die beobachteten Quadrupolmomente entsprechen durchwegs sehr schwachen Abweichungen von der Kugelsymmetrie, können aber nichtsdestoweniger für die magnetische Kernresonanzspektroskopie sehr wichtig werden.

Die untenstehende Tabelle gibt unter Benützung umfangreicherer Zusammenstellungen⁴ eine Übersicht über

⁴ G. E. PAKE, *Nuclear Magnetic Resonance* in SEITZ und TURNBULL, *Solid State Physics*, Vol. 2 (New York 1956). – N. M. R. TABLE, Varian Associates (Palo Alto, Calif.).

Isotop	Natürliche Häufigkeit %	Spin	Magn. Moment μ in Einheiten μ_K	g	Elektrisches Quadrupolmoment in Einheiten $e \cdot 10^{-24} \text{ cm}^2$	Resonanz Frequenz bei $H = 10^4 \text{ G}$ in 10^6 s^{-1}
H	99,98	1/2	2,79277	5,58554	0	42,57
D	$1,56 \cdot 10^{-2}$	1	0,85741	0,85741	$2,77 \cdot 10^{-3}$	6,535
B ¹⁰	18,83	3	1,801	0,60033	0,111	4,578
B ¹¹	81,17	3/2	2,689	1,793	$3,55 \cdot 10^{-2}$	13,67
C ¹²	98,9	0	0	0	0	0
C ¹³	1,1	1/2	0,7023	1,4046	0	10,71
N ¹⁴	99,62	1	0,4037	0,4037	$2 \cdot 10^{-2}$	3,077
N ¹⁵	0,38	1/2	-0,2831	-0,5662	0	4,316
O ¹⁶	99,757	0	0	0	0	—
O ¹⁷	0,039	5/2	-1,893	-0,757	$-4 \cdot 10^{-3}$	5,772
O ¹⁸	0,204	0	0	0	0	—
F ¹⁹	100	1/2	2,628	5,256	0	40,07
Na ²³	100	3/2	2,217	1,478	0,1	11,267
Al ²⁷	100	5/2	3,641	1,456	0,149	11,10
Si ²⁸	92,28	0	0	0	0	—
Si ²⁹	4,67	1/2	-0,5549	-1,1098	0	8,460
Si ³⁰	3,05	0	0	0	0	—
P ³¹	100	1/2	1,131	2,262	0	17,24
S ³²	95,06	0	0	0	0	—
S ³³	0,74	3/2	0,6429	0,4286	$-6,4 \cdot 10^{-2}$	3,267
S ³⁴	4,18	0	0	0	0	—
Cl ³⁵	75,4	3/2	0,8210	0,5473	$-7,97 \cdot 10^{-2}$	4,173
Cl ³⁷	24,6	3/2	0,6835	0,4557	$-6,21 \cdot 10^{-2}$	3,474
K ³⁹	93,3	3/2	0,3910	0,2607	—	1,987
K ⁴⁰	0,011	4	-1,296	-0,324	—	2,470
K ⁴¹	6,7	3/2	-0,2145	-0,1430	—	1,090
Br ⁷⁹	50,5	3/2	2,106	1,404	0,30	10,70
Br ⁸¹	49,5	3/2	2,269	1,513	0,25	11,53
J ¹²⁷	100	5/2	2,809	1,124	-0,59	8,565

die Kerneigenschaften einiger für die organische Chemie besonders wichtiger Elemente.

Man erkennt, dass bei einer Reihe von wichtigen Elementen (C, O, Si und S) nur seltene Isotope magnetische Momente haben und somit oft nur nach Anreicherung dieses Isotops zu Kernresonanzexperimenten benützt werden können. Unter den angeführten Isotopen sind H^1 , F^{19} und P^{31} besonders gut zu magnetischen Kernresonanzuntersuchungen geeignet, weil bei diesen infolge des verschwindenden Quadrupolmomentes die Signale besonders scharf werden. Es sind aber, wie wir erörtern werden, auch mit andern Kernen, zum Beispiel N^{14} , sehr interessante Versuche durchgeführt worden.

b) *Kerne im Magnetfeld.* Aus den Postulaten der Quantentheorie folgt, dass die in einer bestimmten Raumrichtung beobachtbare Komponente m des Drehimpulses ν nur die $(2S + 1)$ verschiedenen Werte $m = S, S-1, \dots, 1-S, -S$ annehmen kann, wobei S den Spin bedeutet.

Da somit die Komponente μ_H des magnetischen Kernmomentes in der Richtung eines am Orte des Kerns wirkenden Magnetfeldes H_K nur die Werte $\mu_H = \mu \cdot m/S$ annehmen kann, erhält dieser im Magnetfeld die $(2S + 1)$ verschiedenen Energiezustände

$$E_m = -\mu_H H_K = -\mu m/S H_K = -g \mu_K H_K,$$

die von einander den einheitlichen Abstand

$$\Delta E = \frac{\mu}{S} H_K = g \cdot \mu_K H_K$$

haben (Fig. 2).

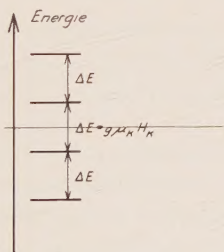


Fig. 2. Mögliche Energiezustände eines Kerns mit Spin S ($S = 3/2$) in einem Magnetfeld H_K .

Übergänge von einem Energieniveau zum nächst höheren können daher durch ein magnetisches Wechselfeld der Frequenz

$$\nu = \frac{1}{h} \frac{\mu}{S} H_K = \frac{g \mu_K}{h} H_K \quad (1)$$

angeregt werden. Dies wirkt sich darin aus, dass die Substanz für diese Frequenz des magnetischen Wechselfeldes etwas erhöhte magnetische Verluste zeigt, das heisst, sie absorbiert Energie aus dem magnetischen Wechselfeld. Übergänge zum übernächsten Energieniveau, welche durch ein Wechselfeld von der doppelten Frequenz angeregt würden, sind durch Auswahlregeln stark verboten.

Gemäss Gleichung (1) hat somit jeder Kern bei gegebenem Magnetfeld H_K entsprechend seinem gyromagnetischen Faktor eine genau bestimmte Absorptionsfrequenz. In der Tabelle sind diese Frequenzen für ein Magnetfeld von 10000 Gauss eingetragen. Man erkennt, dass die meisten dieser Frequenzen zwischen 3 und 40 Megahertz, also im experimentell leicht zugänglichen Meterwellengebiet liegen.

Bei der klassischen Behandlung des Problems, die in besonders übersichtlicher Weise von PAKE⁵ zusammengefasst wurde, wird gezeigt, dass die Kernspins mit der durch den Ausdruck (1) gegebenen Frequenz um die Richtung von H_K präzedieren. Wenn die Frequenz des angelegten Wechselfeldes mit der Präzessionsfrequenz übereinstimmt, so tritt häufige Spin-Umklappung auf. Von diesem Resonanzphänomen stammt der Name «Kernresonanz».

Es lässt sich ebenfalls zeigen, dass die Kerne im Resonanzfall in einer Spule, deren Achse senkrecht zum Magnetfeld und senkrecht zur Achse der das wechselnde Magnetfeld erzeugenden Spule steht, eine Wechselfeldspannung induzieren, woraus sich der Name «Kerninduktion» erklärt.

c) *Das Magnetfeld am Ort eines Kerns und die Struktur der Absorptionssignale.* Bringt man eine Substanz in ein äusseres Magnetfeld H_A , so ist das Magnetfeld H_K am Ort eines Kerns nicht genau gleich H_A , sondern es kommt durch die folgenden Effekte ein Unterschied zwischen H_A und H_K zustande:

α) *Makroskopische Abschirmung.* Jede Substanz und jeder Substanzbehälter hat eine, wenn auch kleine magnetische Suszeptibilität, welche bewirkt, dass das makroskopische Magnetfeld H_i im Innern der Probe vom äusseren Magnetfeld etwas verschieden ist. Ist das äussere Magnetfeld homogen, so trifft dies bei geeigneter Probenform (Ellipsoid, langer Zylinder) für das innere Magnetfeld ebenfalls zu.

Die Suszeptibilitäten χ der für Kernresonanzversuche in Frage kommenden diamagnetischen Proben liegen in der Grössenordnung von -10^{-6} . Die relative Differenz $H_i - H_A/H_A$ ist von derselben Grössenordnung wie χ . Sie ist absolut kaum messbar, spielt aber bei Vergleichen des Einflusses verschiedener Lösungsmittel eine Rolle.

β) *Atomare Abschirmung.* Das makroskopische Feld H_i im Innern der Probe ist noch keineswegs gleich dem Feld am Ort der Atomkerne. Da jeder Kern von einer Elektronenwolke umgeben ist, wird das Feld H_i am Ort des Kerns etwas abgeschirmt; LAMB⁶ hat berechnet, dass das direkt von H_i herrührende Feld H_K' am Orte eines Kerns der Ordnungszahl Z näherungsweise gegeben ist durch $H_K' = H_i (1 - 0,319 \cdot 10^{-4} Z^{4/3})$. $H_i - H_K'/H_i$ liegt demnach bei Wasserstoffatomen in der Grössenordnung $3 \cdot 10^{-5}$, bei Fluor bei $6 \cdot 10^{-4}$ und bei

⁵ G. E. PAKE, Amer. J. Phys. 18, 438, 473 (1950).

⁶ W. E. LAMB, Phys. Rev. 60, 817 (1941).

Phosphor bei $1,2 \cdot 10^{-3}$ und muss daher zum Beispiel bei der exakten Bestimmung von magnetischen Kernmomenten aus Molekularstrahl- oder Kernresonanzexperimenten berücksichtigt werden.

Die von LAMB gefundene Formel wurde unter Annahme freier Atome berechnet. Handelt es sich aber um chemisch gebundene Atome, so ist je nach Bindungszustand die atomare Abschirmung etwas grösser oder kleiner als die Lambsche Formel angibt, weil die Elektronenverteilung in verschiedenen Bindungen unterschiedlich ist. Bringt man eine Substanz, welche dasselbe Element in verschiedenem Bindungszustand enthält (zum Beispiel aliphatische und aromatische H-Atome) in ein äusseres Magnetfeld H_A , so ist das Feld H_K am Ort der Kerne der verschieden gebundenen Atome etwas verschieden. Gemäss Gleichung (1) ist daher die Absorptionsfrequenz etwas verschieden. Man beobachtet jedem Bindungszustand entsprechend eine besondere Absorptionsfrequenz.

In den meisten Fällen ändert man bei der Messung nicht die Frequenz, sondern variiert bei konstanter Frequenz das äussere Magnetfeld. Wird nun bei einem bestimmten äusseren Feld die Absorptionsbedingung für den einen Bindungszustand erfüllt, so bedarf es eines etwas anderen Feldes, um die Absorptionsbedingung für Kerne von Atomen in einem anderen Bindungszustand zu erfüllen. Diese Erscheinung wird allgemein als «chemical shift» bezeichnet und ist in Hinsicht auf chemische Anwendungen von besonders starkem Interesse. Es ist üblich, das Feld H_A , bei dem Absorption der Kerne mit bestimmtem Bindungszustand auftritt, mit dem entsprechenden Feld H_R für eine Vergleichssubstanz zu vergleichen. Da $H_A - H_R$ noch von der absoluten Grösse des angewendeten Magnetfeldes abhängt, ist es zweckmässig, die feldunabhängige Grösse

$$\delta = \frac{H_A - H_R}{H_R}$$

zur Charakterisierung einer Bindung zu verwenden. δ wird bei dieser heute üblichen, aber nicht immer eingehaltenen Wahl des Vorzeichens positiv, wenn H_A grösser als H_R ist, das heisst, wenn der Kern in der betrachteten Bindung stärker abgeschirmt ist als der Kern in der Vergleichsbindung. Dies ist im allgemeinen dann der Fall, wenn die Elektronendichte um den betrachteten Kern grösser ist als um den Vergleichskern.

Mit der theoretischen Deutung des «chemical shift» hat sich vor allem RAMSEY⁷ beschäftigt. Da in die von ihm gefundenen Ausdrücke einige noch nicht genügend bekannte Grössen (Energien von angeregten Molekülzuständen usw.) eingehen, konnte noch keine quantitative Übereinstimmung mit experimentellen Werten erreicht werden. Doch ist die Grössenordnung des Effektes bestätigt. Experimentell wurde der Effekt

an grösseren Reihen von chemischen Substanzen, besonders von GUTOWSKY und seinen Mitarbeitern⁸ untersucht. Die empirischen Resultate werden im Abschnitt über chemische Anwendungen besprochen. Hier sei lediglich festgehalten, dass δ gewöhnlich von der Grössenordnung einiger 10^{-6} ist, das heisst dass bei $H_A = 10000$ Gauss $H_A - H_K$ einige Hundertstel Gauss beträgt.

γ) *Felder von Nachbarkernen.* Der Einfluss von Nachbarkernen ist nicht zu vernachlässigen. In der Tat erzeugt ein Kernmagneton im Abstand 1 Å ein zusätzliches Magnetfeld H_N von der Grössenordnung

$$H_N = \frac{\mu_K}{r^3} = \frac{5 \cdot 10^{-24}}{10^{-24}} = 5 \text{ Gauss.}$$

Dies ist unabhängig vom äusseren Magnetfeld und etwa 100mal grösser als die infolge des «chemical shift» entstehenden Feldungleichheiten.

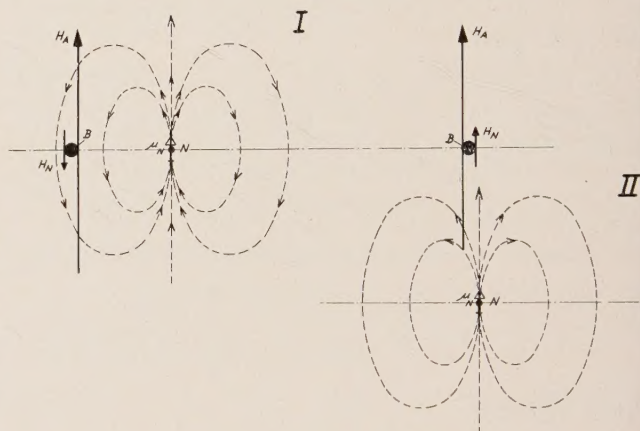


Fig. 3. Magnetische Beeinflussung durch Nachbar-Spins. Bei der gegenseitigen Orientierung I ist das durch Nachbarkern N am Ort des beobachteten Kerns B erzeugte Zusatzfeld dem äusseren Feld H_A entgegengesetzt, bei der Orientierung II hingegen gleichgerichtet.

Je nach der gegenseitigen Orientierung wird dieser Einfluss das Feld am Ort des betrachteten Kerns verstärken oder schwächen (Fig. 3). Ist die gegenseitige Orientierung fest wie zum Beispiel in Kristallen, so ist der Effekt auf das Feld am Ort gewisser Kerne dauernd verstärkend und am Ort anderer Kerne dauernd schwächend, das heisst das Absorptionssignal wird eine Breite entsprechend etwa ± 5 Gauss Magnetfeldänderung haben. Deshalb sind an festen Substanzen Beobachtungen des «chemical shift» unmöglich. Wenn jedoch die gegenseitige Lage benachbarter Kerne rasch wechselt, wie zum Beispiel in Flüssigkeiten, so mittelt sich das Störfeld des Nachbars, wie sich mit Hilfe des Ausdrucks für das Feld eines Dipols leicht zeigen lässt, heraus und der rein magnetische Nachbareffekt ver-

⁷ N. F. RAMSEY, Phys. Rev. 77, 567 (1950); 78, 699 (1950); 86, 243 (1952); *Nuclear Moments* (New York 1953).

⁸ H. S. GUTOWSKY und C. J. HOFFMAN, Phys. Rev. 80, 110 (1950); J. chem. Phys. 19, 1259 (1951). – H. S. GUTOWSKY, D. W. MCCALL, B. R. MCGARVEY und L. H. MEYER, J. Amer. chem. Soc. 74, 4809 (1952). – H. S. GUTOWSKY und B. R. MCGARVEY, J. chem. Phys. 21, 1423 (1953). – L. H. MEYER, A. SAIKA und H. S. GUTOWSKY, J. Amer. chem. Soc. 75, 4567 (1953).

schwindet. Dieser Umstand allein ermöglicht die Beobachtung des «chemical shift» und noch feinere Aufspaltungen im magnetischen Kernabsorptionsspektrum von Flüssigkeiten. Die Frage, wie rasch die Orientierungsänderung vor sich gehen muss, damit sich der Einfluss der Nachbarkerne herausmittelt, soll im Abschnitt II d besprochen werden.

δ) *Durch Elektronen vermittelte Spin-Spin-Wechselwirkung.* Die eben besprochene magnetische Feldwirkung ist nicht die einzige Art der Wechselwirkung zwischen Kernspins. Wie RAMSEY und PURCELL⁹, RAMSEY¹⁰ und MC CONNELL¹¹ theoretisch zeigten und wie wohl zuerst von CARR und PURCELL¹² experimentell bewiesen wurde, besteht eine durch die Bindungselektronen vermittelte Wechselwirkung zwischen verschiedenen Kernspins. Diese ist etwa so zu verstehen, dass bei gegebener Richtung des Kernspins des einen Bindungspartners die Spins der Bindungselektronen eine Vorzugslage einnehmen und dadurch ausrichtend auf den Kern des andern Bindungspartners wirken. Diese Kopplung hängt nicht von der räumlichen Lage der Kernverbindungsline ab, sondern nur von der gegenseitigen Orientierung der Kernspins. Daher mittelt sich der Effekt bei raschen gegenseitigen Lageänderungen in Flüssigkeiten nicht heraus wie der direkte magnetische. Der Einfluss auf den beobachteten Kern mittelt sich jedoch dann heraus, wenn der Spin des Kerns des andern Bindungspartners seine Orientierung häufig wechselt, was praktisch bei schwacher Kopplung an die Hülle nur dann vorkommt, wenn ein magnetisches Wechselfeld mit der Resonanzfrequenz des Spins des Bindungspartners angelegt wird.

Diese Kopplung entspricht bei direkt aneinander gebundenen Kernen einer Magnetfeldänderung von der Grössenordnung $1/100$ bis $1/10$ Gauss. Zwischen nicht direkt aneinander gebundenen Kernen, zum Beispiel zwischen zwei an denselben aromatischen Kern gebundenen Protonen ist sie rund 10mal kleiner. Im Gegensatz zum «chemical shift» ist dieser Effekt nicht vom angelegten Magnetfeld abhängig und kann auf Grund dieser Eigenschaft separiert werden.

Besitzt ein beeinflussender Kern oder eine beeinflussende Gruppe äquivalenter Kerne den Gesamtspin S , so sind $2S + 1$ verschiedene Komponenten in Feldrichtung und damit ebenso viele verschiedene Zusatzfelder am Ort des Nachbarkerns möglich. Die Absorption des beeinflussten Kerns wird daher als $(2S + 1)$ -faches Multiplett erscheinen. Je nachdem der Nachbarkern oder die Nachbargruppe den Spin $1/2$, 1 , $3/2$, 2 , ... besitzt, findet man somit das Absorptionssignal eines beobachteten Kerns beziehungsweise in ein Dublett, Triplet, Quartett, Quintett ... aufgespalten.

Die Intensität der einzelnen Multiplettkomponenten ist proportional zur Zahl der Realisierungsmöglichkeiten der entsprechenden Spinkomponente des Nachbarkerns oder der Nachbargruppe in Feldrichtung. Ist der die Multiplettstruktur verursachende Nachbar ein einzelner Kern mit beliebigem Spin, so sind alle Multiplett-Komponenten gleich stark, weil für jede Spinkomponente in Feldrichtung eine und nur eine Realisierungsmöglichkeit besteht. Setzt sich hingegen die Nachbargruppe aus 2 chemisch identischen Atomen mit Kernspin $1/2$ zusammen, so bestehen für die Spinkomponenten 1 und -1 je eine, für die Spinkomponente 0 dagegen zwei Realisierungsmöglichkeiten, nämlich $\uparrow\downarrow$ und $\downarrow\uparrow$. Das entstehende Triplet hat daher die Intensitäten $1:2:1$. Für ein durch 3 identische Nachbarkerne mit Spin $1/2$ erzeugtes Quartett ist entsprechend die Intensitätsverteilung $1:3:3:1$ zu erwarten. Die Intensitätsverteilung für andere Fälle ist auf Grund solcher Überlegungen leicht ableitbar.

Bei der Beobachtung der magnetischen Resonanz-Absorption von Sb^{121} in SbF_6 -Ionen wurde entsprechend $S = 6 \cdot 1/2$ der F-Atome ein Septett mit den Intensitäten $1:6:15:20:15:6:1$ beobachtet¹³, woraus man schliessen kann, dass alle 6 F-Atome chemisch äquivalent, das heisst regulär oktaedrisch um das Antimon-Atom angeordnet sind.

Wie sich quantentheoretisch zeigen lässt¹⁴ und wie durchwegs beobachtet wird, entsteht durch die durch die Elektronen vermittelte Kopplung zwischen den Kernspins *äquivalenter* Kerne keine Aufspaltung in Multipletts. So hat zum Beispiel Benzol nur eine einfache Protonenresonanzstelle. Man kann sich dieses Verhalten grob dadurch plausibel machen, dass man bedenkt, dass äquivalente Kerne ununterscheidbar sind und exakt gleiche Absorptionsfrequenzen ergeben. Will man daher die Absorption des einen betrachten, so ändern infolge des angelegten magnetischen Wechselfeldes gleichzeitig die andern ihre Spinrichtung so oft, dass eine Ausmittlung ihres Einflusses entsteht.

Wenn der Unterschied des «chemical shift» zweier Gruppen von der Grössenordnung der Multiplettaufspaltung wird, so treten weniger übersichtliche Aufspaltungsbilder auf, was theoretisch erklärt wurde¹⁵.

Aus dem Gesagten geht hervor, dass man aus der Beobachtung der Multiplizität und Intensitätsverhältnisse des Absorptionssignals eines Kerns oder einer Gruppe identischer Kerne weitgehende Schlüsse auf die Nachbarkerne ziehen kann. Solche Schlüsse können durch sogenannte Doppelresonanz-Experimente er-

¹³ S. S. DHARMATTI und H. E. WEAVER JR., Phys. Rev. 87, 675 (1952).

¹⁴ H. S. GUTOWSKY, D. W. MCCALL und C. P. SLICHTER, J. chem. Phys. 21, 279 (1953). – E. L. HAHN und D. E. MAXWELL, Phys. Rev. 88, 1070 (1952).

¹⁵ M. K. BANERJEE, T. P. DAS und A. K. SAHA, Proc. Roy. Soc. (London) 226 A, 490 (1954). – W. ANDERSON und H. M. MCCONNELL, J. chem. Phys. 26, 1496 (1957).

⁹ N. F. RAMSEY und E. M. PURCELL, Phys. Rev. 85, 143 (1952).

¹⁰ N. F. RAMSEY, Phys. Rev. 81, 303 (1953).

¹¹ H. M. MCCONNELL, J. chem. Phys. 24, 460 (1956).

¹² H. Y. CARR und E. M. PURCELL, Phys. Rev. 88, 415 (1952).

härten werden. Man überlagert dabei dem magnetischen Wechselfeld ein zweites, dessen Frequenz mit der Resonanzfrequenz der die Aufspaltung verursachenden Nachbarkerne übereinstimmt. Dadurch werden diese zu häufigem Richtungswechsel angeregt, wodurch ihr Einfluss ausgemittelt wird und die Multipllettstruktur verschwinden muss. Ein besonders eindrückliches Beispiel ist in Figur 4 gegeben.

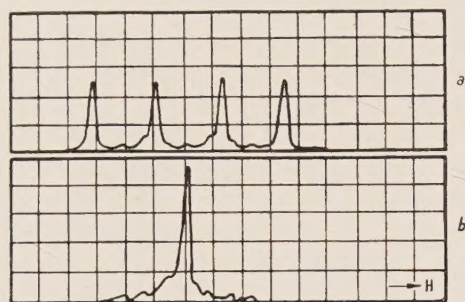


Fig. 4. Protonenresonanzspektrum von BH_4^+ -Ionen. – a) Ohne gleichzeitige Anregung der B^{11} -(Spin 3/2)-Resonanz. – b) Bei gleichzeitiger Anregung der B^{11} -Resonanz. Die an den Flanken sichtbare Struktur kommt von dem durch die natürlichen 18% B^{10} (Spin 3) erzeugten Septett. Nach SHOOLERY¹⁶.

d) *Die Schärfe der Absorptionssignale.* Die natürliche Schärfe der Absorptionssignale hängt von der Genauigkeit ab, mit der die Energieniveaux beobachtbar sind. Entsprechend den Heisenbergschen Unsicherheitsrelationen¹⁷ ist der minimale Fehler der Energiemessung ΔE von der Grössenordnung $\hbar/\Delta t$, wenn Δt die Messzeit ist. Da die Messzeit im Mittel höchstens gleich der mittleren Lebensdauer τ eines Energiezustandes sein kann, wird $\Delta E = \hbar/\tau$. Daraus folgt, dass die Breite der Absorptionsbanden um so grösser ist, je kleiner die Lebensdauer des entsprechenden Energiezustandes. τ seinerseits wird um so kürzer sein, je leichter ein Kernspin seine Energie mit der Umgebung, das heisst mit der Elektronenhülle oder mit Nachbarspins austauschen kann. Aus der Breite der Signale schliesst man in Festkörpern auf eine Lebensdauer τ von 10^{-4} bis 10^{-5} s, in Flüssigkeiten dagegen auf $1\text{--}10^{-1}$ s. BLOEMBERGEN, PURCELL und POUND¹⁸ konnten diese Werte theoretisch erklären. Die grosse Linienschärfe in Flüssigkeiten rührt hauptsächlich von der Ausmittlung der starken magnetischen Wechselwirkung zwischen den Kernen her.

Es soll nun auf die Frage eingegangen werden, wie häufig die Änderung einer Beeinflussung erfolgen muss, damit statt ihren verschiedenen Momentanwerten ihr Mittelwert für das beobachtete Absorptionssignal massgebend ist.

Die oben eingeführte Lebensdauer τ , welche sich aus der Breite der Absorptionssignale ergibt, ist ein Mass

dafür, wie lange es braucht, bis ein Kern bei den bestehenden Energieübertragungsmechanismen seine Energie mit den Nachbarkernen und der Elektronenhülle ausgetauscht hat. Damit eine bestimmte Beeinflussung wirksam wird, muss sie deshalb während einer Zeit der Grössenordnung τ stets gleichsinnig wirken. Ändert sie während dieser Zeit ihr Vorzeichen oft, so kann kein wesentlicher Energieaustausch des Kerns mit der Hülle erfolgen. Seine Lebensdauer τ in einem bestimmten Energiezustand wird dann gross und damit das Absorptionssignal schärfer.

Ganz allgemein lässt sich der folgende Satz aufstellen: Ein infolge einer bestimmten Beeinflussung verbreitertes oder in Komponenten aufgespaltenes Absorptionssignal zieht sich dann zu einem einfachen, schmalen Absorptionssignal zusammen, wenn die die Verbreiterung oder Aufspaltung verursachende Beeinflussung innerhalb der aus der Linienbreite oder Linienaufspaltung bestimmten Lebensdauer τ oft wechselt.

Gemäss diesem Prinzip, welches von verschiedenen Autoren einlässlich behandelt wurde¹⁹, kommen nicht nur die Ausmittlung der starken magnetischen Dipol-Dipol-Wechselwirkung in Flüssigkeiten und das erwähnte Verschwinden der Multipllettstrukturen bei Doppelresonanzen zustande, sondern es ist, wie sich in späteren Abschnitten zeigen wird, auch für apparative Verfeinerungen und sehr viele chemische Anwendungen von grundlegender Wichtigkeit.

Ausser den bisher betrachteten Energieübertragungsmechanismen (Dipol-Dipol-Wechselwirkung, durch Elektronen vermittelte Spin-Spin-Wechselwirkung usw.) bestehen noch andere. Besitzt ein Kern ein elektrisches Quadrupolmoment und befindet er sich in einer Stellung im Molekül, in der ein elektrischer Feldgradient vorhanden ist, so ist seine Energie abhängig vom Winkel zwischen Feldgradient und Quadrupolmoment. Hiedurch besteht eine weitere Möglichkeit für Energieaustausch und damit Linienverbreiterung.

Da aber die Wechselwirkungsenergie bei einem Vorzeichenwechsel des Feldgradienten ihr Vorzeichen nicht ändert, so kann sich diese Beeinflussung bei Lagewechseln eines Moleküls in Flüssigkeiten nicht zu Null herausmitteln, wie dies bei der Dipol-Dipol-Wechselwirkung der Fall ist. Daher sind die Absorptionssignale von Kernen mit elektrischen Quadrupolmomenten auch in Flüssigkeiten verbreitert. Die Verbreiterung tritt nur dann nicht ein, wenn infolge der Molekülsymmetrie der Feldgradient am Ort des betrachteten Kerns verschwindet.

Ein sehr schönes Beispiel haben OGG und RAY²⁰ gefunden. Sie zeigten, dass in dem pyramidal gebauten

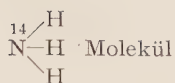
¹⁶ J. N. SHOOLERY, Disc. Faraday Soc. 19, 215 (1955).

¹⁷ Siehe zum Beispiel: W. KAUFMANN, *Quantum Chemistry* (Academic Press, New York 1957), p. 240.

¹⁸ N. BLOEMBERGEN, E. M. PURCELL und R. V. POUND, Phys. Rev. 73, 679 (1948).

¹⁹ G. E. PAKE, *Nuclear Magnetic Resonance* in SEITZ und TURNBULL, *Solid State Physics*, vol. 2 (New York 1956). – N. BLOEMBERGEN, E. M. PURCELL und R. V. POUND, Phys. Rev. 73, 679 (1948). – H. S. GUTOWSKY und H. SAIKA, J. chem. Phys. 21, 1688 (1953).

²⁰ R. A. OGG, Jr. und J. D. RAY, J. chem. Phys. 26, 1339 (1957).



infolge des Feldgradienten am Ort des N starke Quadrupol-Linienverbreiterung eintritt, während im tetraedrisch gebauten NH_4^+ -Ion dank dem am Ort des N^{14} -Kerns verschwindenden Feldgradienten keine Linienverbreiterung beobachtet wird.

Ferner können Linienverbreiterungen durch Anwesenheit paramagnetischer Ionen hervorgerufen werden. Durch die im Vergleich zu den Kernmomenten sehr grossen Hüllen-Momente dieser Ionen kommt eine starke Wechselwirkung zwischen Kernen und Hüllen-elektronen zustande, welche durch die gegenseitige Bewegung in Flüssigkeiten nicht vollständig ausgeglichen wird.

III. Apparatives

Die experimentelle Untersuchung von Kernresonanzspektren besteht im wesentlichen in magnetischen Verlust-Messungen im Meterwellengebiet. BLOEMBERGEN, PURCELL, TORREY und POUND^{18 21} schalteten daher eine, die Probe umgebende Spule in einen Arm

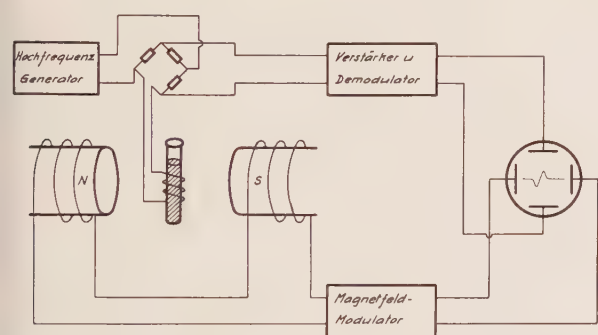


Fig. 5. Prinzip der Kernresonanz-Apparatur von PURCELL, TORREY und POUND²¹.

einer im Nichtresonanzfall abgeglichenen Hochfrequenzbrücke. Nimmt das Magnetfeld den bei der verwendeten Frequenz für die Kernresonanz durch Gleichung (1) vorgeschriebenen Wert an, so entstehen in der Probe zusätzliche Verluste und im Nullinstrument der Brücke fliesst ein Strom (Fig. 5).

BLOCH, HANSEN und PACKARD²² beobachteten statt dessen das Signal, welches die Kernspins bei Resonanz durch Induktion in einer zweiten, genau senkrecht zur Erregerspule orientierten Suchspule erzeugen (Fig. 6).

In beiden Fällen wird bei konstant gehaltener Frequenz das statische Magnetfeld über einen kleinen Bereich variiert, damit nacheinander alle der infolge

²¹ E. M. PURCELL, H. C. TORREY und R. V. POUND, Phys. Rev. 69, 37 (1946).

²² F. BLOCH, W. W. HANSEN und M. PACKARD, Phys. Rev. 70, 474 (1946).

«chemical shift» usw. etwas verschiedenen Resonanz-Magnetfelder angenommen werden. Das Signal kann auf einem Oszillographenschirm oder mit Hilfe eines Schreibers in Funktion des Magnetfeldes aufgezeichnet

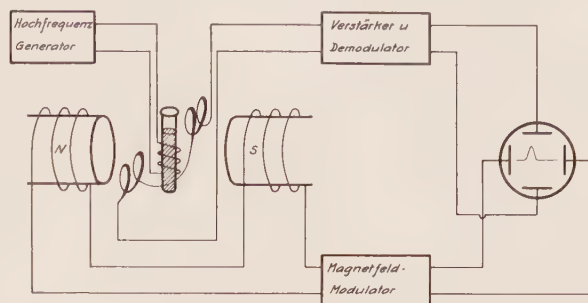


Fig. 6. Prinzip der Kernresonanz-Apparatur von BLOCH, HANSEN und PACKARD²².

werden. Je nach der Art der Demodulation entstehen Absorptions- oder Dispersionskurven (Fig. 7).

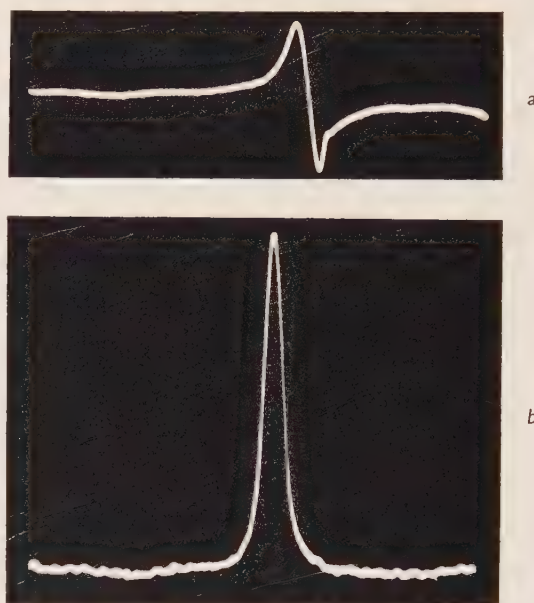


Fig. 7. a) Dispersionsignal, b) Absorptionssignal der Protonen von Wasser, welches Eisennitrat-Ionen enthält. Nach BLOEMBERGEN, PURCELL und POUND¹⁸.

Die erhaltenen Signale sind gewöhnlich so klein, dass grosse Anstrengungen zur Erreichung eines guten Verhältnisses von Signal zu Rauschpegel unternommen werden müssen.

Wie erwähnt entsprechen die Linienabstände und Linienbreiten in Kernresonanzspektren von Flüssigkeiten oft nur wenigen Hundertstel oder gar Tausendstel Gauss, was bei einem Magnetfeld von etwa 10^4 Gauss enorme Ansprüche an die örtliche und zeitliche Konstanz stellt. Die örtliche Konstanz wird durch sorgfältige Bearbeitung und Ausrichtung der Polschuhe sowie durch Anbringen von Hilfsspulen so weit

wie möglich getrieben²³. Verbleibende Inhomogenitäten können teilweise durch genügend rasche Rotation der Probe während der Messung ausgemittelt werden. Die für sehr hoch auflösende Kernspektroskopie nötige zeitliche Konstanz lässt sich allein durch Stabilisierung des den Magneten erregenden Stroms infolge der überall vorhandenen Streufelder nicht erreichen. Es ist nötig, die durch die Magnetfeldänderungen in einer zwischen die Pole gebrachten Hilfsspule induzierten Spannungen zu integrieren und damit den Strom einer zweiten zwischen die Pole gebrachten Hilfsspule zu steuern²⁴. Die auf diese Weise erreichte Stabilität beträgt etwa 10^{-4} Gauss pro Minute bei einem Feld von 10^4 Gauss.

Zur Messung werden bei den empfindlichsten Apparaten einige Milligramm Substanz benötigt²³. Da die Untersuchung meistens in flüssiger Phase durchgeführt werden muss, ist es erforderlich, feste Substanzen in Lösungsmitteln zu lösen. Die Konzentration muss im allgemeinen mindestens 10% betragen.

Es sind auch geeignete Thermostaten beschrieben worden²⁵, welche gestatten, Proben bei erhöhter oder erniedrigter Temperatur zu untersuchen.

Magnetische Kernresonanzspektrographen werden heute kommerziell hergestellt²⁶.

IV. Anwendungen in der Chemie

Im folgenden soll an Hand einer ausgewählten Zahl von typischen Problemen gezeigt werden, in welcher vielgestaltiger Weise sich die beschriebenen physikalischen Grundlagen auf die Interpretation von Kernresonanzspektren anwenden lassen.

a) *Elektronenverteilung in Molekülen*. Wie erörtert, hängt der «chemical shift» eng mit der Elektronendichte in der Umgebung des betrachteten Kerns zusammen.

Die grösste Zahl von Beobachtungen bezieht sich auf den «chemical shift» von Protonen. Die in Figur 8 wiedergegebene Zusammenstellung von MEYER, SAIKA und GUTOWSKY²⁷ veranschaulicht sehr gut die verschiedenen magnetische Abschirmung der Protonen verschiedener funktioneller Gruppen. Je grösser der «chemical shift», desto grösser ist im allgemeinen die Elektronendichte um das Proton. Es ist jedoch hervorzuheben, dass der Abschirmeffekt nicht allein von der Elektronendichte abhängt, sondern auch vom Hybridisierungszustand beeinflusst wird, was daraus zu sehen

ist, dass zum Beispiel der «shift» bei $\equiv\text{CH}$ zwischen denjenigen von $-\text{CH}_3$ und $=\text{CH}_2$ liegt. Selbstverständlich können diese «chemical shifts» in ähnlicher Weise wie die Infrarotzuordnungen zur Identifikation funktioneller Gruppen verwendet werden.

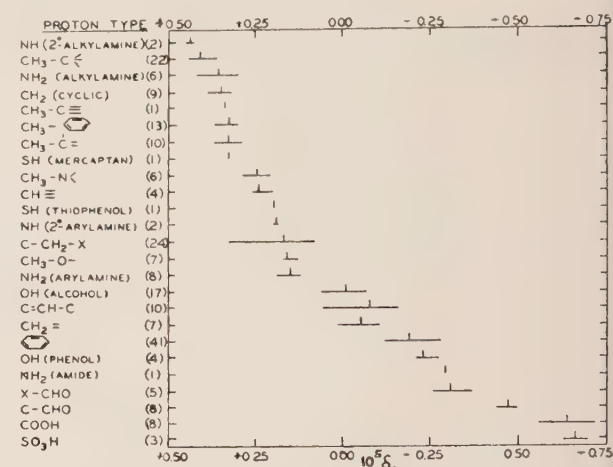


Fig. 8. «Chemical shift» δ der Protonenresonanzen verschiedener funktioneller Gruppen gegenüber Wasser. Die horizontale Linie zeigt den Bereich der beobachteten Werte an. Die vertikale Linie gibt den Mittelwert. Die eingeklammerte Zahl bedeutet die Zahl der beobachteten Substanzen. Nach MEYER, SAIKA und GUTOWSKY²⁷.

Ähnliche Zusammenstellungen wurden von LAUTERBUR²⁸ und von HOLM²⁹ für C^{13} gegeben, welches ohne Anreicherung des Isotops untersucht werden konnte. (Fig. 9). Ebenso haben HOLDER und KLEIN³⁰ (Fig. 10) bei N^{14} und WEAVER, TOLBERT und LA FORCE³¹ bei O^{17} (Fig. 11) «chemical shifts» gemessen und zusammengestellt. GUTOWSKY und MCCALL³² geben «chemical shifts» für P^{31} in verschiedenen Verbindungen, und MEYER und GUTOWSKY³³ und GUTOWSKY, MCCALL, MCGARVEY und MEYER³⁴ betrachten «chemical shifts» von F^{19} in Fluor-Methanen und Fluor-Benzolen. Eine grössere Zusammenstellung von «chemical shifts» gibt WERTZ³⁵.

Die Untersuchungen an Fluor-Benzolen³⁴ sind besonders im Zusammenhang mit der Theorie der aromatischen Substitution interessant, indem sich eine Korrelation zwischen dem «chemical shift» der F^{19} -Resonanz (bezogen auf Fluorbenzol) von meta- und parasubstituierten Fluorbenzolen einerseits und den Hammettschen σ -Werten³⁶ der Substituenten-

²⁸ P. C. LAUTERBUR, J. chem. Phys. 26, 217 (1957) L.

²⁹ C. H. HOLM, J. chem. Phys. 26, 707 (1957) L.

³⁰ B. E. HOLDER und M. P. KLEIN, J. chem. Phys. 23, 1956 (1955) L.

³¹ H. E. WEAVER, B. M. TOLBERT und R. C. LA FORCE, J. chem. Phys. 23, 1956 (1955) L.

³² H. S. GUTOWSKY und D. W. MCCALL, J. chem. Phys. 22, 162 (1954).

³³ L. H. MEYER und H. S. GUTOWSKY, J. phys. Chem. 57, 481 (1953).

³⁴ H. S. GUTOWSKY, D. W. MCCALL, B. R. MCGARVEY und L. H. MEYER, J. Amer. chem. Soc. 74, 4809 (1952).

³⁵ J. E. WERTZ, Chem. Rev. 55, 829 (1955).

³⁶ L. P. HAMMETT, Physical Organic Chemistry (New York 1940). - H. H. JAFFÉ, Chem. Rev. 53, 191 (1953).

²³ H. PRIMAS und H. H. GÜNTARD, Helv. phys. Acta 30, 315, 331 (1957).

²⁴ R. H. DICKE und J. P. LLOYD, Abstracts APS Meeting Houston (1956). - H. PRIMAS und H. H. GÜNTARD, Rev. Sci. Instr. 28, 510 (1957).

²⁵ J. N. SHOOLERY und J. D. ROBERTS, Rev. sci. Instr. 28, 61 (1957). - L. N. MULAY, Rev. sci. Instr. 28, 279 (1957).

²⁶ Fa. Trüb Täuber, Zürich, Schweiz; Fa. Varian, Palo Alto, Calif. USA.

²⁷ L. H. MEYER, A. SAIKA und H. S. GUTOWSKY, J. Amer. chem. Soc. 75, 4567 (1953).

gruppen anderseits ergab. Da die untersuchten Fluorbenzole die Reaktionsprodukte sind, die bei der Fluor-

der Reaktion, sondern viel eher von der Polarisierbarkeit an den verschiedenen Stellen abhängt.

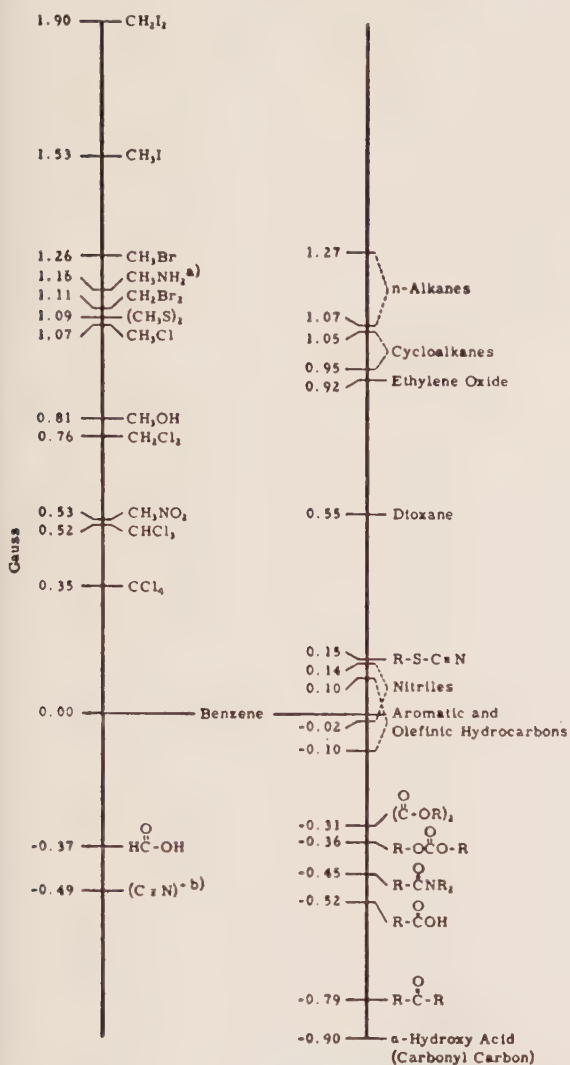


FIG. 9. Auf Benzol bezogene «chemical shifts» von ^{13}C gemessen in Gauss bei einem Magnetfeld von 10^4 Gauss. — a) 40% wässrige Lösung, b) gesättigte wässrige Lösung von KCN mit auf 16% angereichertem ^{13}C . Nach HOLM²⁹.

rierung der verschiedenen Benzol-Derivate entstehen, kann man hieraus folgern, dass die Reaktionsgeschwindigkeiten mit den Ladungsverhältnissen während oder nach der Reaktion zusammenhängen. Eine interessante Ergänzung hiezu bildet die Studie von CORIO und DAILEY³⁷, welche aus der Beobachtung der *ortho*-, *meta*- und *para*-Protonen-Resonanzen verschiedener monosubstituierter Benzole schliessen, dass vor der Reaktion die Elektronendichten in *meta*- und *para*-Stellung (bei vielen Substituenten auch in *ortho*-Stellung) praktisch gleich sind. Hieraus schliessen die Autoren, dass die dirigierende Wirkung eines Substituenten nicht wie vielfach angenommen von der Ladungsdichte an verschiedenen Stellen vor Beginn

³⁷ P. L. CORIO und B. P. DAILEY, J. Amer. chem. Soc. 78, 3043 (1956).

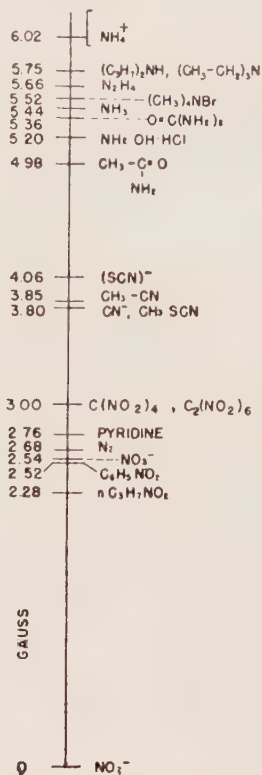


Fig. 10. Auf NO_2^- bezogene «chemical shifts» für N^{14} gemessen in Gauss bei einem Magnetfeld von 10^4 Gauss. Nach HOLDER und KLEIN³⁰.

DAILEY und SHOOLERY³⁸ finden eine lineare Abhängigkeit zwischen der Elektronegativität des Halogenatoms und der Differenz des «chemical shift» von Methyl- und Methylen-Protonen in Äthylhalogeniden.

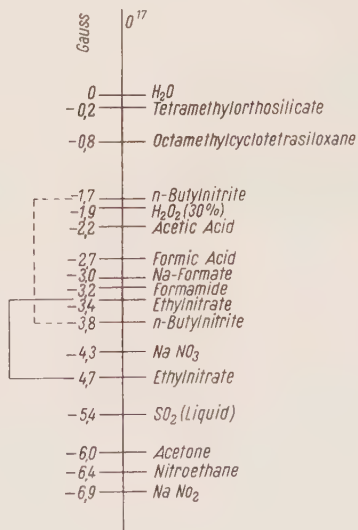


Fig. 11. Auf Wasser bezogene «chemical shifts» von O^{17} gemessen in Gauss bei einem Magnetfeld von 10^4 Gauss. Nach WEAVER, TOLBERT und LA FORCE³¹.

³⁸ B. P. DAILEY und J. N. SHOOLERY, J. Amer. chem. Soc. 77, 3977 (1955).

In verschiedenen Arbeiten³⁹ wird darauf hingewiesen, dass die beobachteten «chemical shifts» oft beachtlich vom Lösungsmittel und von der Konzentration abhängen.

Als für viele Substanzen günstiges Lösungsmittel mit kleiner Konzentrationsabhängigkeit wird Cyclohexan empfohlen⁴⁰. Besondere Vorsicht ist bei leicht H-Brücken bildenden Gruppen (zum Beispiel —OH) geboten. Wie COHEN und REID⁴¹ und unabhängig DIEHL⁴² feststellten, kann sich die Resonanzstelle des Hydroxylprotons, welche sich beim konzentrierten Äthylalkohol am einen Ende des Protonenspektrums befindet, bei Verdünnung mit CCl_4 oder Benzol über die CH_2 - und CH_3 -Resonanzstellen hinweg nach dem andern Ende des Spektrums verschieben.

b) *Strukturaufklärung*. Die Zahl der Fälle, in denen die magnetische Kernresonanz-Spektroskopie zur Aufklärung oder Sicherstellung von chemischen Strukturformeln oder zur Ermittlung der geometrischen Struktur von Molekülen beigetragen hat, ist schon sehr gross. Wir versuchen, die hauptsächlichsten, bei solchen Untersuchungen wichtigen Überlegungen an Hand einiger Beispiele zu illustrieren.

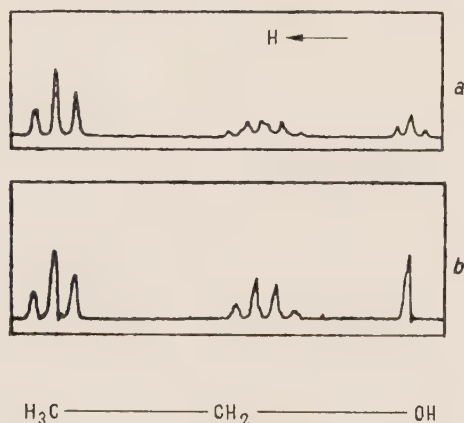


Fig. 12. Magnetische Kernresonanzspektren von a) getrocknetem, b) ungetrocknetem Äthylalkohol. Nach ANDERSON und ARNOLD⁴³.

In den meisten Fällen handelt es sich um die Entscheidung zwischen zwei oder drei durch chemische oder strukturtheoretische Gründe möglichen Varianten. Wie in der UV- und IR-Spektroskopie geschieht dies meistens dadurch, dass man das gemessene Spektrum mit den für die verschiedenen Varianten theoretisch voraussagbaren Spektren vergleicht. Es geht daher bei diesen Anwendungen vor allem darum, auf Grund der Kenntnis der «chemical shifts» und der Gesetze der Multipliettaufspaltung unter Berücksichti-

gung der Feldmittelung infolge Kernbewegung möglichst zuverlässige Voraussagen für das Spektrum einer bestimmten Variante zu gewinnen.

Wir deuten daher zunächst die Spektren einiger bekannter Verbindungen:

Ein bereits klassisches Beispiel ist das Spektrum von Äthylalkohol (Fig. 12a). Man erkennt auf der Seite, wo das Magnetfeld gross ist, die Absorption der stark abgeschirmten Protonen der CH_3 -Gruppe. Infolge der Rotation der Gruppe um die C—C-Bindung sind diese drei Protonen identisch. Die Absorption ist durch Wechselwirkung mit den zwei Spins $\frac{1}{2}$ der zentralen CH_2 -Protonen in ein Triplet aufgespalten. Die Wechselwirkung mit dem Proton der OH-Gruppe ist vernachlässigbar. Die Absorption des OH-Protons an der Seite mit kleinem Magnetfeld ist entsprechend auch in ein Triplet aufgespalten. Die in der Mitte gelegene CH_2 -Absorption ist durch Wechselwirkung mit den drei CH_3 -Protonen in 4 Komponenten und diese wiederum durch Wechselwirkung mit dem OH-Proton in je zwei Komponenten, das heisst in total 8 Komponenten aufgespalten. Wegen des beschränkten Auflösungsvermögens der Apparatur sind in Figur 12a allerdings nicht alle 8 Komponenten getrennt sichtbar.

Wird der Alkohol vor der Messung nicht sehr streng gereinigt, so können die —OH-Protonen mit Protonen der Verunreinigung austauschen. Schon bei einer H^+ - oder OH^- -Ionenkonzentration von 10^{-5} molar erfolgt dieser Austausch rascher, als der Aufspaltung des OH-Protonentriplets entspricht. Daher beobachtet man statt dessen nur eine Linie. Damit fällt auch die durch das OH-Proton bedingte Aufspaltung der CH_2 -Resonanz weg, welche daher zu einem Quartett mit den Intensitäten 1:3:3:1 degeneriert (vgl. Fig. 12b).

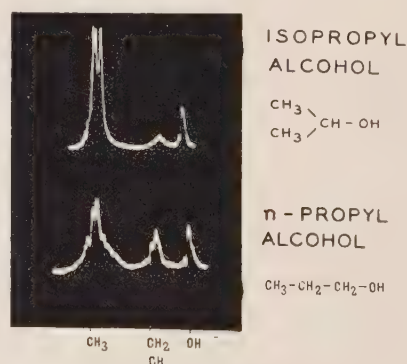


Fig. 13. Magnetische Kernresonanzspektren von Isopropylalkohol und *n*-Propylalkohol⁴⁴.

In Figur 13 sind die Spektren von *n*-Propylalkohol und Isopropylalkohol verglichen. Die Aufnahme ist älteren Datums und daher noch nicht so gut aufgelöst. Doch ist daraus klar ersichtlich, dass die den CH- und

³⁹ A. A. BOTHNER-BY und R. E. GLICK, J. chem. Phys. 26, 1647, 1651 (1957). — S. PETER, Phys. Rev. 93, 940 A (1954). — P. L. CORIO und B. P. DAILY, J. chem. Phys. 25, 1291 (1956) L.

⁴⁰ P. L. CORIO und B. P. DAILY, J. chem. Phys. 25, 1291 (1956) L.

⁴¹ A. D. COHEN und C. REID, J. chem. Phys. 25, 790 (1956) L.

⁴² P. DIEHL, Helv. phys. Acta 30, 91 (1957).

⁴³ W. A. ANDERSON und J. T. ARNOLD, Disc. Faraday Soc. 19, 226 (1955).

⁴⁴ Technical Information from the Radio-Frequency Laboratories of Varian Associates Vol. 1 (1955).

CH_2 -Protonen entsprechende Spitze beim *n*-Propylalkohol grösser ist als beim Isopropylalkohol. Diese Unterscheidung ist absolut, das heisst man braucht nicht das Spektrum der einen Verbindung zum voraus experimentell zu bestimmen, um die Zuordnung zu treffen. Mit Hilfe der IR-Spektroskopie wäre dies nicht ohne weiteres möglich.

Benzol zeigt eine einzige wegen der Äquivalenz seiner Protonen nicht aufgespaltene Kernresonanzlinie, während bei monosubstituierten Benzolen oft verschiedene Absorptionsspitzen festgestellt werden, die den *o*-, *m*- und *p*-Protonen zugeordnet werden können³⁷.

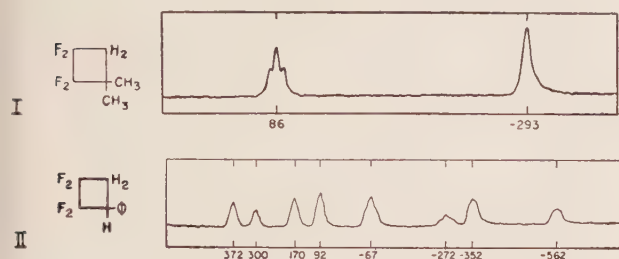


Fig. 14. F^{19} -Spektrum von a) symmetrisch, b) unsymmetrisch substituierten Tetrafluorzyklobutanen. Die nach Formel 2 definierten «chemical shifts» ergeben sich aus der angeschriebenen Frequenzabweichung Δf zu $\delta = -\Delta f/30 \cdot 10^6$.

Wie stark die Symmetrie die Aufspaltungsbilder vereinfacht, geht aus dem Vergleich der F^{19} -Spektren der Substanzen I und II von Figur 14 hervor⁴⁵. Im Fall I hat man, weil das C-Gerüst eben gebaut ist, nur zwei verschiedene Arten von F-Atomen. Die Spitze der der CH_2 -Gruppe benachbarten CF_2 -Gruppe spaltet infolge der Spinkopplung in ein 1:2:1-Triplett auf. Die Kopplung zwischen den F^{19} -Kernen der verschiedenen Gruppen ist nicht nachweisbar. Daher bleibt die Absorption der anderen CF_2 -Gruppen unaufgespalten. Im Fall II sind alle F-Atome verschieden. Nun haben die F-Kerne nicht nur verschiedenen «chemical shift», sondern es kommen auch Spin-Spin-Kopplungen zwischen den an dasselbe C-Atom gebundenen Kernen zur Wirkung.

Bei CH_3J mit auf 51% angereichertem C^{13} sieht man im Protonenspektrum neben der unaufgespaltenen Linie der C^{12} (Spin 0) enthaltenden Moleküle die symmetrisch in ein Dublett aufgespaltene Absorption der Protonen in den C^{13} (Spin $1/2$) enthaltenden Molekülen (Fig. 15)⁴⁴.

Das C^{13} -Resonanzsignal ist entsprechend dem Totalspin $3/2$ der 3 Protonen in ein Quartett aufgespalten. Infolge der starken, durch sein elektrisches Quadrupolmoment bedingten Wechselwirkung mit der Hülle ändert der J^{127} -Kern seine Richtung zu oft, um eine weitere Aufspaltung der H^1 - oder C^{13} -Resonanzen zu erzeugen. Zum Schluss dieser Reihe, die sich fast unbegrenzt fortsetzen liesse, zitieren wir noch den Fall

von Diboran, B_2H_6 , bei dem der lange Streit über die mögliche Struktur durch Kernresonanzversuche von OGG⁴⁶ und SHOOLERY¹⁶ endgültig entschieden wurde.

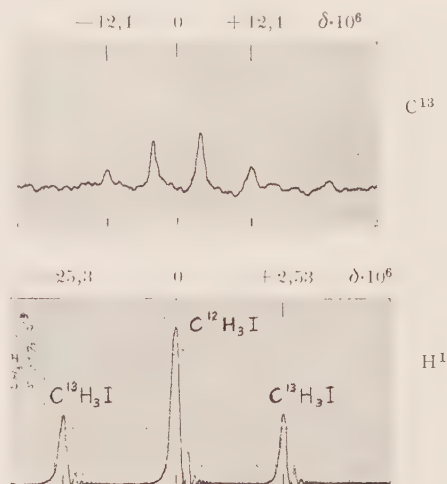


Fig. 15. H^1 - und C^{13} -Spektren von CH_3J , das 51% C^{13} enthält⁴⁴. Die rechts von den Absorptionsspitzen des Protonenspektrums erscheinenden gedämpften Schwingungen (sog. Wiggles) sind durch die endliche Abtastgeschwindigkeit bedingt. Sie verschwinden bei sehr langsamer Abtastung.

Wäre die Hantelstruktur III zutreffend, so müsste das Kernresonanzspektrum der Protonen



im wesentlichen aus einem Quartett bestehen, weil der zu 80% vorhandene B^{11} -Kern den Spin $3/2$ hat und alle Protonen identisch sind. Das B^{11} -Spektrum müsste ein Quartett mit den Intensitäten 1:3:3:1 sein. Die Brückenstruktur IV lässt dagegen zwei gegeneinander

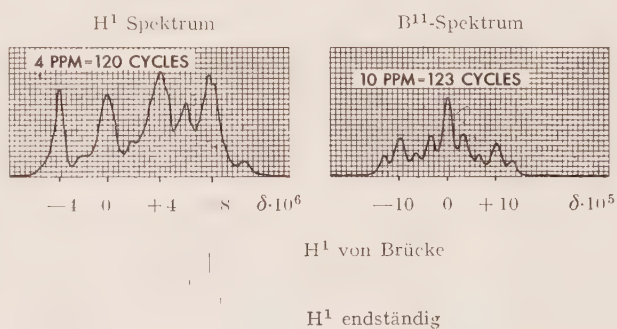


Fig. 16. H^1 - und B^{11} -Spektrum von B_2H_6 .

durch «chemical shift» verschobene Protonenabsorptionen erwarten, von denen die eine den Brückenprotonen entsprechende, im wesentlichen (Vernachlässigung von B^{10}) in ein Septett aufgespalten sein muss, während die andere, doppelt so intensive, ein Quartett sein muss. Die B^{11} -Absorption sollte sich aus

⁴⁵ W. D. PHILLIPS, J. chem. Phys. 25, 949 (1956).

⁴⁶ R. A. OGG, Jr., J. chem. Phys. 22, 1933 (1954).

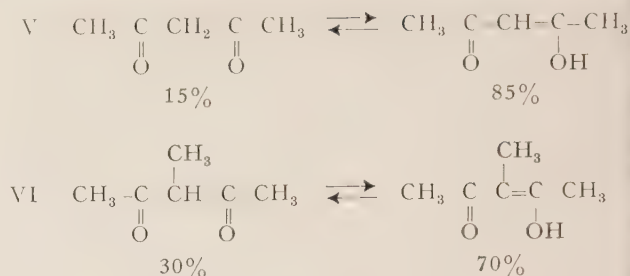
drei Triplets 1:2:1 zusammensetzen, weil sich je eine schwache Tripletaufspaltung durch die zwei Brückenprotonen der starken Aufspaltung durch die endständigen Protonen überlagert. Figur 16 zeigt, dass die auf Grund der Brückenstruktur vorausgesagten Charakteristika für das experimentelle Spektrum zutreffen.

Weitere Beispiele findet man bei BAKER⁴⁷ und im Bulletin von Varian⁴⁴.

Die meisten der bisher untersuchten Moleküle sind für organisch-chemische Begriffe klein. Es bestehen aber heute schon Ansätze zur Behandlung etwas grösserer aromatischer Moleküle⁴⁸ und von Aminosäuren und Dipeptiden⁴⁹. Wie DAUBEN und FONKEN⁵⁰ zeigten, lässt sich die Kernresonanzmethode in gewissen Fällen mit Erfolg auf Fragen der Steroidchemie anwenden. SAUNDERS, WISHNIA und KIRKWOOD⁵¹ haben durch Untersuchung von Ribonuklease in schwerem Wasser als Lösungsmittel die nicht austauschbaren Protonen in verschiedene Gruppen unterteilen können.

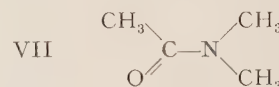
c) *Chemische Austauschgeschwindigkeiten und Gleichgewichte.* Die Tatsache, dass in Kernresonanzexperimenten ein Kern, der zwischen chemisch verschiedenen Lagen ausgetauscht wird, nur ein einziges Signal gibt, wenn dieser Austausch genügend rasch erfolgt, kann zu Bestimmungen von Austauschgeschwindigkeiten gebraucht werden, indem man von Bedingungen für raschen Austausch entweder durch Temperatur- oder Konzentrationsänderungen zu Bedingungen für langsamen Austausch übergeht. OGG⁵² hat auf diese Weise die sehr grosse Geschwindigkeitskonstante für den Protonenaustausch zwischen NH_3 und NH_2^- ermittelt, und MCCONNELL und WEAVER⁵³ untersuchten den Elektronenaustausch zwischen Cu^{++} - und Cu^+ -Ionen durch Beobachtung der Cu^{63} -Resonanz. Durch Messung des «chemical shift» der Protonen in Funktion der Verdünnung haben verschiedene Autoren⁵⁴ die Dissoziation von Säuren untersucht.

JARRET, SADLER und SHOOLERY⁵⁵ behandelten die Keto-Enol-Tautomerie der Diketone V und VI, was allerdings durch IR-Messungen vermutlich auch möglich gewesen wäre.



Mit diesen Untersuchungen verwandt ist die Feststellung der Drehbarkeit um gewisse Bindungen. Ein bestimmter Kern kann ja auch dadurch aus einer Stellung in eine nicht äquivalente übergehen.

GUTOWSKY und HOLM⁵⁶ fanden zum Beispiel, dass die Dimethylaminogruppe in Dimethylazetamid VII, dessen Gerüst eben gebaut ist, bei 60°C



sich im Mittel ungefähr 10 mal pro Sekunde um 180° um die Richtung der zentralen C-N-Bindung dreht.

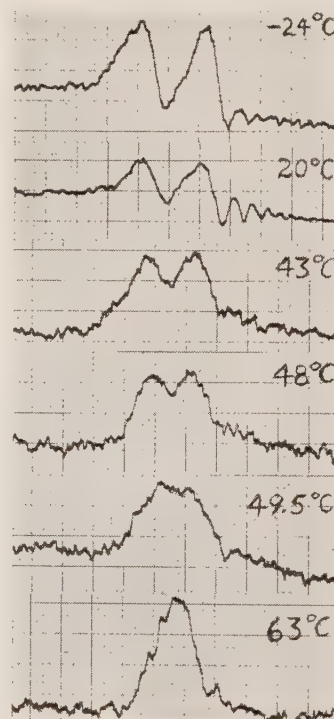


Fig. 17. Kernresonanzspektrum der Amid- CH_3 -Protonen von Dimethylacetamid VII bei verschiedenen Temperaturen. Die gesamte Breite entspricht $19,5 \text{ s}^{-1}$.

Figur 17 zeigt das entsprechende Verhalten der bei tieferen Temperaturen getrennt erscheinenden Absorptionsmaxima der beiden Amid- CH_3 -Gruppen.

⁴⁷ E. B. BAKER, Appl. Spectroscopy 10, 201 (1956).

⁴⁸ C. REID, J. mol. Spectr. 1, 18 (1957).

⁴⁹ M. TAKEDA und O. JARDETZKY, J. chem. Phys. 26, 1346 (1957) N.

⁵⁰ W. G. DAUBEN und G. J. FONKEN, J. Amer. chem. Soc. 79, 2971 (1957).

⁵¹ M. SAUNDERS, A. WISHNIA und J. G. KIRKWOOD, J. Amer. chem. Soc. 79, 3289 (1957).

⁵² R. A. OGG Jr., Disc. Faraday Soc. 17, 215 (1954).

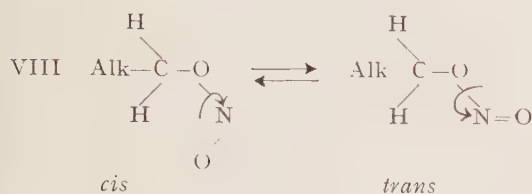
⁵³ H. M. MCCONNELL und H. E. WEAVER Jr., J. chem. Phys. 25, 307 (1956).

⁵⁴ H. S. GUTOWSKY und H. SAIKA, J. chem. Phys. 21, 1688 (1953). – G. C. HOOD, O. REDLICH und C. A. REILLY, J. chem. Phys. 22, 2067 (1954).

⁵⁵ H. S. JARRET, M. S. SADLER und J. N. SHOOLERY, J. chem. Phys. 21, 2092 (1953) L.

⁵⁶ H. S. GUTOWSKY und C. H. HOLM, J. chem. Phys. 25, 1228 (1956).

Unlängst sind auch zwei Arbeiten⁵⁷ über die Drehbarkeit der O–N-Bindung in Alkylnitriten VIII erschienen. Hier setzt die Drehbarkeit bei etwa -55°C ein, wodurch die *cis*- und *trans*-Form ineinander übergehen können.



Analoge Erscheinungen treten bei Inversionen auf. Ein schönes Beispiel findet man bei BOTTINI und ROBERTS⁵⁸, welche Autoren die Stickstoffinversion in zyklischen Iminen untersucht haben.

d) *Umwandlungserscheinungen in Kristallen.* Bei der Untersuchung von Kristallen beobachtet man oft, dass die infolge der starken magnetischen Dipol-Dipol-Wechselwirkung einige Gauss breiten Resonanzsignale bei bestimmten Temperaturen schmaler werden oder dass sich auf die breite Absorption eine schärfere Spitze überlagert. Dies bedeutet, dass eine Feldmitteilung wirksam wird, das heisst dass die untersuchten Kerne ihre Plätze oft genug wechseln.

Die entsprechenden Temperaturen fallen durchaus nicht immer mit den Anomalien der spezifischen Wärme, mit röntgenographisch erkennbaren Übergangstemperaturen oder gar mit dem Schmelzpunkt zusammen. Das rührt davon her, dass relativ seltene Platzwechsel (in Kristallen etwa alle 10^{-5} s) genügen, um die Feldmitteilung wirksam werden zu lassen. Da ein Platzwechselvorgang nur etwa 10^{-11} s dauert, verhält sich bei dieser Platzwechselfrequenz das Molekül während des weitaus grössten Teils der Zeit wie im absolut stabilen Kristall. Die magnetische Kernresonanzspektroskopie ist daher eine ausserordentlich empfindliche Methode zur Erforschung von Platzwechselvorgängen in Kristallen.

Bei NH_4Cl -Kristallen tritt bekanntlich bei 245°K eine Anomalie der spezifischen Wärme auf, die damit zusammenhängt, dass bei dieser Temperatur die NH_4^+ -Tetraeder praktisch frei drehbar werden. PURCELL⁵⁹ fand hingegen, dass sich schon bei 130°K die Protonenresonanzlinie wesentlich verengert und nachher bei 245°K keine Veränderung mehr erleidet. ANDREW⁶⁰ fand bei Benzol bei 118°K eine Verengung der Protonenresonanz, welche er mit dem Einsetzen der Rotation der Moleküle um die zur Ringebene senkrechte

Achse in Zusammenhang bringt. Bei Naphtalin wird keine Veränderung der Linienbreite von 96°K bis zum Schmelzpunkt festgestellt, während bei Anthracen-kristallen bei etwa 195°K wieder ein starker Abfall der Linienbreite beobachtet wurde. Die Bewegungsart, die dazu führt, ist noch nicht sichergestellt. POWLES und GUTOWSKY⁶¹ fanden, dass in Kristallen einiger tetra-substituierter Methane die CH_3 -Gruppen erst oberhalb -196°C drehbar werden.

Das Protonen- oder F^{19} -Signal von Kunststoffen besteht meist aus einer breiten Bande, der eine schärfere überlagert ist. Unter der Annahme, dass die breite Bande vom kristallinen Anteil und die schmale Bande von einem amorphen, flüssigkeitsähnlichen Anteil herrührt, haben WILSON und PAKE⁶² das Verhältnis amorph/kristallin bestimmt. Es besteht aber offenbar keine Gewissheit, ob die schmale Bande nicht ebenso gut von einem frei drehbaren Teil der Protonen oder F^{19} -Kerne herrührt und somit das Flächenverhältnis von schmaler und breiter Bande eher ein Charakteristikum des Vernetzungsgrades als der Kristallinität darstellt.

FUJIWARA, AMAMIYA und SHINOHARA⁶³ und FUSCHILLO und SAUER⁶⁴ stellten einen deutlichen Einfluss von energiereicher Strahlung auf das Kernresonanzspektrum von Polyäthylen fest.

e) *Wasserstoff-Brücken.* Bei Infrarotuntersuchungen wurde konstatiert⁶⁵, dass sich die Absorptionsfrequenz der X–H-Bindung bei Vorliegen einer Wasserstoffbrücke mit einer Nachbargruppe verringert, was einer Lockerung der Bindung entspricht. Analog verschiebt sich bei magnetischen Kernresonanzexperimenten bei konstanter Frequenz das Protonensignal nach kleineren Feldstärken, was auf eine Abnahme der Elektronendichte in der unmittelbaren Umgebung des Protons schliessen lässt. Die entsprechenden «chemical shifts» betragen je nach Stärke der H-Brücke bis etwa $5 \cdot 10^{-6}$ ⁶⁶.

In verdünnten Lösungen, in denen gebundene und freie X–H-Gruppen nebeneinander bestehen, beobachtet man infolge des schnellen Wechsels zwischen gebundenem und freiem Zustand nur ein einfaches Protonensignal, welches bei um so kleinerem Magnetfeld liegt, je grösser der Bruchteil der Zeit ist, in der sich die Gruppe in gebundenem Zustand befindet. Wenn man zum Beispiel durch Extrapolation von Messungen bei sehr geringer und bei sehr grosser Konzentration die

⁶¹ J. G. POWLES und H. S. GUTOWSKY, J. chem. Phys. 21, 1695 (1953).

⁶² C. W. WILSON und G. E. PAKE, J. Polym. Sci. 10, 503 (1953).

⁶³ S. FUJIWARA, A. AMAMIYA und K. SHINOHARA, J. chem. Phys. 26, 1343 (1957) N.

⁶⁴ N. FUSCHILLO und J. A. SAUER, J. chem. Phys. 26, 1348 (1957) N.

⁶⁵ Siehe zum Beispiel R. MECKE, Disc. Faraday Soc. 9, 161 (1950).

⁶⁶ R. A. OGG, Jr., Helv. phys. Acta 30, 89 (1957); J. chem. Phys. 22, 560 (1954). – A. D. COHEN und C. REID, J. chem. Phys. 25, 790 (1956) L. – P. DIEHL, Helv. phys. Acta 30, 91 (1957).

⁵⁷ L. H. PIETTE, J. D. RAY und R. A. OGG, J. chem. Phys. 26, 1341 (1957) N. – W. D. PHILLIPS, C. E. LOONEY und C. P. SPAETH, J. mol. Spectr. 1, 35 (1957).

⁵⁸ A. T. BOTTINI und J. D. ROBERTS, J. Amer. chem. Soc. 78, 5126 (1956).

⁵⁹ E. M. PURCELL, Physica 17, 282 (1951).

⁶⁰ E. R. ANDREW, J. chem. Phys. 18, 607 (1950).

«chemical shifts» für den dauernd freien und den dauernd gebundenen Zustand kennt, so kann man aus der Beobachtung der «chemical shifts» im Zwischengebiet das Verhältnis von gebundenen zu freien Gruppen bestimmen. Diese Grösse lässt sich natürlich auch im Infrarot durch Intensitätsmessung der Absorptionsbanden ermitteln. Doch dürfte die Frequenzmessung sicherer und bequemer sein. Genau gleich, wie dies MECKE⁶⁵ bei der Verarbeitung von IR-Daten getan hat, kann man aus den Kernresonanzmessungen Gleichgewichtskonstanten zwischen gebundenen und freien Molekülen und Bildungswärmen für die H-Brücken berechnen. HUGGINS, PIMENTEL und SHOOLERY führten dies für verschieden substituierte Phenole⁶⁷ und für Chloroform-Aceton- und Chloroform-Triäthylaminkomplexe⁶⁸ durch. SHOOLERY und ALDER⁶⁹ stellten fest, dass die H-Brücken in Wasser durch hohe Konzentrationen von diamagnetischen Ionen teilweise gelöst werden.

Bei intramolekularen H-Brücken fällt natürlich der Verdünnungseffekt aus.

V. Schlussbemerkung

Die in diesem Bericht gegebene Theorie der magnetischen Kernresonanz ist, wie auf dem zur Verfügung stehenden Raum nicht anders möglich, stark vereinfacht und einseitig. Vieles, was für die Chemie nicht von unmittelbarem Interesse ist, wie zum Beispiel die Theorie der Linienbreite und Linienkontur in Kristallen, wurde weggelassen. Wir hoffen aber, durch die Hinweise auf Originalarbeiten den Zugang zu einem

⁶⁷ C. M. HUGGINS, G. C. PIMENTEL und J. N. SHOOLERY, *J. phys. Chem.* **60**, 1311 (1956).

⁶⁸ C. M. HUGGINS, G. C. PIMENTEL und J. N. SHOOLERY, *J. chem. Phys.* **23**, 1244 (1955).

⁶⁹ J. N. SHOOLERY und B. J. ALDER, *J. chem. Phys.* **23**, 805 (1955).

detaillierten Verständnis erleichtert zu haben. In diesem Zusammenhang ist auch die Monographie von ANDREW⁷⁰ zu erwähnen, in der allerdings sehr wenig chemische Fragen erörtert werden.

Es dürfte aus unserer Zusammenstellung von Anwendungsbeispielen ohne weiteres hervorgehen, dass gewisse chemisch interessante Fragen sowohl durch Infrarot-Untersuchungen wie auch durch Kernresonanz-Messungen beantwortet werden können. Diese Überlappung der Anwendungsgebiete macht aber keine der beiden Methoden beim Vorhandensein der andern überflüssig. Erstens sind ja die gewonnenen Schlüsse selten so eindeutig, dass sich eine Bestätigung durch ein anderes Experiment vollkommen erübrigt, und zweitens hat jede der Methoden spezifische Anwendungen, bei denen sie nicht durcheinander ersetzt werden können. Beispielsweise erlaubt die IR-Spektroskopie keine Aussagen über sehr rasch verlaufende chemische Austauschvorgänge, zu deren Untersuchung die Kernresonanzmethode ausgezeichnet geeignet ist. Umgekehrt leistet heute die Infrarotspektroskopie der Chemie komplizierter Moleküle (zum Beispiel Steroide) Dienste, die die Kernresonanzmethode vorläufig lange nicht in diesem Umfang übernehmen kann.

Den Herren Dr. A. BOTTINI, Dr. E. GANZ und Dr. R. ZÜRCHER bin ich für Anregungen und Kritik bei der Ausarbeitung des vorstehenden Artikels sehr zu Dank verpflichtet.

Summary

This paper gives a simple outline of those features of the theory of nuclear magnetic resonance that are important to chemical applications. After a short description of apparatus and experimental techniques, there follows a number of representative chemical applications. The possibilities of the method are compared with the information obtained from infra-red spectroscopy.

⁷⁰ E. R. ANDREW, *Nuclear Magnetic Resonance* (Cambridge 1955).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. - Für die kurzen Mitteilungen ist ausschliesslich der Autor verantwortlich. - Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. - The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

N-Alkylation by Means of Esters. A New Use of Lithium Aluminium Hydride

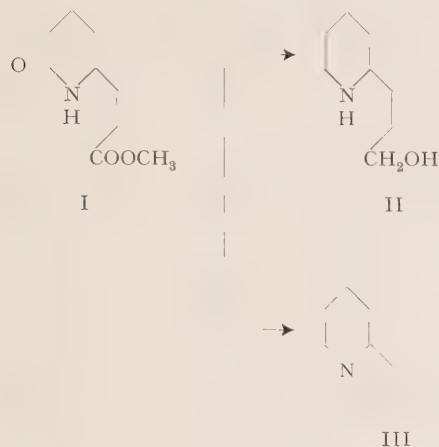
In connection with the synthesis of natural products, we reduced the lactam-ester (I) with LiAlH_4 and obtained, together with the expected amino-alcohol (II), an oxygen-free base in a 15% yield, which was identified

as δ -coniceine (octahydro-pipecoline) (III)¹ (b.p.₁₅ 50°C; $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{N}$ calculated C, 76.74%; H, 12.08%; N, 11.19%; found: C, 76.58%; H, 12.02; N, 11.00%. Picrate m.p. 226–227°C; calculated for $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{O}_7\text{N}_4$: C, 47.45%; H, 5.12%; N, 15.82%; found: C, 47.58%; H, 5.40%; N, 15.98%).

This cyclisation represents an example of an N-alkylation by means of an ester in presence of LiAlH_4 . As far as we know, only a single case of a similar reaction type, namely the formation of a pyrrolidine derivative during the LiAlH_4 reduction of the half-amide of a substituted

¹ See, also for earlier references, N. J. LEONARD, S. SWANN jr., and J. FIGUERES jr., *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 4620 (1952).

succinic acid², has been described, with the statement that the reaction does not appear to be of general application. Realizing the possible use of this new method, especially in the synthesis of alkaloids, we



started some preliminary work on this subject. Our results are summarized in the following Table, from which it appears that secondary amines, with the nitrogen atom belonging to a ring system, as well as lactams are alkylated by carboxylic acid esters in the presence of LiAlH_4 .

N-component	Ester component	Product obtained	Yield %
2-Piperidone	Ethylacetate	N-Ethyl-piperidine	34
2-Piperidone	Benzylbenzoate	N-Benzyl-piperidine	20
Pyrrolidine	Ethylacetate	N-Ethyl-pyrrolidine	22
Piperidine	Ethylacetate	N-Ethyl-piperidine	29
Piperidine	Benzylbenzoate	N-Benzyl-piperidine	48

However, the N-alkylation of a monosubstituted amide under similar conditions has also been observed recently³. Using ketones and aldehydes as potential alkyl groups no alkylation product could be isolated.

Further work is in progress with the goal of increasing yields and determining the width of application of this reaction. Experimental details will be published elsewhere.

A. SEGRE and R. VITERBO

Research Laboratories of Farmochimica Cutolo-Calosi S. p. A., Napoli (Italy), October 10, 1957.

Riassunto

Viene descritto l'uso dell'idruro di litio e alluminio quale agente alchilante-riduttore nella reazione di lat-tami od ammine secondarie, con atomo di azoto appartenente ad un anello, con esteri di acidi carbossilici, per ottenere ammine terziarie.

² V. C. BARRY and D. TWOMEY, Abstracts of papers, *XIIth International Congress of Pure and Applied Chemistry* (New York 1951), p. 308.

³ We thank kindly Dr. J. KALVODA, Laboratorium für organische Chemie, Eidgenössische Technische Hochschule, Zürich, for this communication.

Surface Exchange Adsorption between Precipitates of BaSO_4 and Solutions of BaCl_2 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, CaCl_2 , CsCl , NaCl , and Na_2CrO_4

Some time ago we described¹ the preparation of precipitates of BaSO_4 and the determination of their specific surface area by means of surface exchange adsorption with a saturated solution of radioactive Ba^*SO_4 .

We have now studied the exchange adsorption of these precipitates with solutions of radioactive Ba^*Cl_2 , $\text{Pb}^*(\text{NO}_3)_2$, Ca^*Cl_2 , Cs^*Cl , Na^*Cl , and $\text{Na}_2^*\text{CrO}_4$. The radioactive isotopes used were:

Isotope	$\tau_{1/2}$	Specific Activity	Rays
Ba 131	13.0 d	1 mc/g	EC, γ
Pb 210	25 y	50 mc/g	β , γ
Ca 45	164 d	1 mc/g	β
Cr 51	27.8 d	2 mc/g	EC, γ
Na 22	2.6 y	Carrier free	β^+ , γ
Cs 134	2.3 y	0.75 mc/g	β^- , γ

Suitable volumes (ranging from 1–10 cm^3) of solutions of radioactive salts of suitable initial concentrations (ranging from

$$\begin{aligned}
 &2 \times 10^{-2} \text{ to } 2 \times 10^{-5} \text{ eq./l of } \text{BaCl}_2 \\
 &5 \times 10^{-3} \text{ to } 3 \times 10^{-4} \text{ eq./l of } \text{Pb}(\text{NO}_3)_2 \\
 &1 \times 10^{-3} \text{ to } 2.3 \times 10^{-5} \text{ eq./l of } \text{CaCl}_2 \\
 &5 \times 10^{-3} \text{ to } 5 \times 10^{-7} \text{ eq./l of } \text{NaCl, and } \text{CsCl} \\
 &1 \times 10^{-3} \text{ to } 2 \times 10^{-6} \text{ eq./l of } \text{Na}_2\text{CrO}_4)
 \end{aligned}$$

were shaken for 10, 20, 30, and 40 min in *p v c* tubes with suitable amounts of precipitate of BaSO_4 (ranging from 25–1000 mg), then centrifugated and counted; the results were plotted as a function of the time of adsorption and extrapolated to $t = 0$ in order to obtain the exchange with the surface layer only.

The results were interpreted by means of the well-known equation for surface exchange adsorption equilibrium², stating that the ratio of the total numbers of Ba-ions in the solution and in the surface of the precipitate, and the corresponding number for Pb-ions are in a constant proportion, $f(\text{Pb})$. For the special case of a Ba-salt in solution, $f(\text{Ba}) = 1$. If the volume of the solution is v , the equilibrium concentration c , the mass of precipitate g , the number of equivalents exchanged per g of BaSO_4 x , the number of exchangeable cation equivalents per g of BaSO_4 t , we have the formula

$$\frac{gx/g(t-x)}{cv/gx} = f \quad \text{or} \quad \frac{gx}{cv} = -f + ft \frac{1}{x} \quad (1).$$

Therefore we have plotted gx/cv as a function of $(1/x)$ (Fig. 1a for BaCl_2 and $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$; Fig. 1b for CaCl_2). Straight curves are obtained. The curve for BaCl_2 shows a value $f(\text{Ba}) = 1$, as required; $f(\text{Pb}) = 0.44$; for CaCl_2 the straight line passes so nearly through the origin, that $f(\text{Ca})$ cannot be obtained from the Figure.

The lines for $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ and BaCl_2 both yield a value for $t = 1.4 \times 10^{-5}$ eq./g. If this value is known, the value $f(\text{Ca})$ can be obtained from the slope of the straight line in Figure 1b; this yields $f(\text{Ca}) = 0.00137$.

We also studied the adsorption of NaCl , CsCl , and Na_2CrO_4 from aqueous solutions; there was no measur-

¹ A. J. RUTGERS and W. VAN DEN HEUVEL, *Exper.* 9, 481 (1955).

² I. M. KOLTHOFF and W. M. MAC NEVIN, *J. Amer. chem. Soc.* 58, 499 (1936).

able adsorption, or only a very slight one. For CsCl we also studied the adsorption from a mixture of 88.88% dioxane and 11.12% water (volume percentage). Conductivity measurements showed that CsCl was present here in undissociated form; the adsorption could be measured, and could be represented at low concentrations by a Langmuir isotherm, or by a Freundlich isotherm with $n = 0.92$.

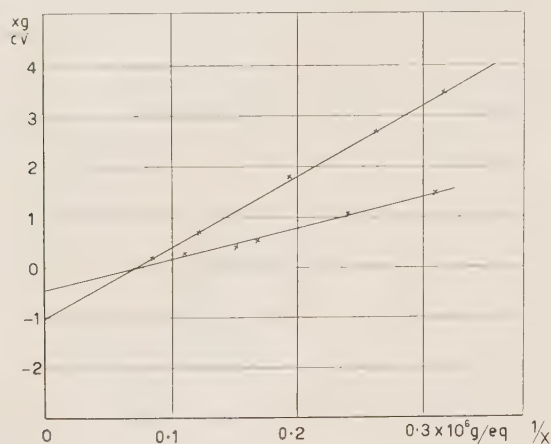


Fig. 1a. $-gx/cv$ as $f(1/x)$ for solutions of BaCl_2 and $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.

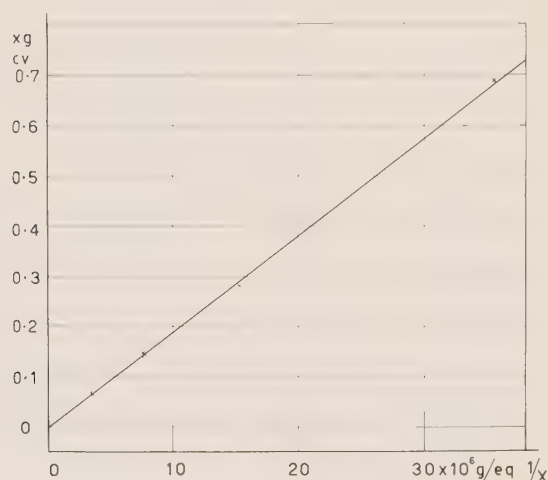


Fig. 1b. $-gx/cv$ as $f(1/x)$ for solutions of CaCl_2 .

The authors gladly express their gratitude to the Interuniversitair Instituut voor Kernwetenschappen and to l'Union Minière du Haut Katanga, who by their grants have enabled the authors to perform this research.

A. J. RUTGERS and W. VAN DEN HEUVEL

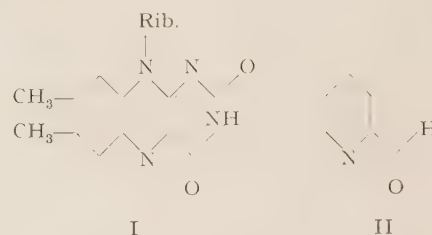
Laboratorium voor Physische Scheikunde der Rijks-universiteit te Gent, September 26, 1957.

Résumé

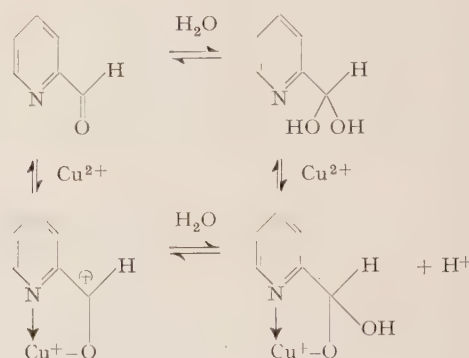
Nous avons étudié l'adsorption d'échange entre des précipités de BaSO_4 et des solutions de BaCl_2 , $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ et CaCl_2 à l'aide de «tracers». Nous avons trouvé que l'adsorption peut être représentée par l'équation (1) pour l'adsorption d'échange; la capacité d'adsorption de notre BaSO_4 était égale à $1,4 \times 10^{-5}$ éq./g. Les grandeurs caractéristiques f , figurant dans l'équation pour l'adsorption d'échange, avaient les valeurs $f(\text{Ba}) = 1$; $f(\text{Pb}) = 0,44$; $f(\text{Ca}) = 0,00137$. Il n'était pas possible de démontrer l'adsorption de CsCl, NaCl or Na_2CrO_4 de solutions aqueuses.

Metallchelate des Picolinaldehyds

Im Rahmen von Untersuchungen über die Chelatbildung von Riboflavin (I) und flavinähnlichen Modellsubstanzen konnten wir feststellen, dass Picolinaldehyd (II)

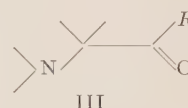


bei der pH-Titration in Gegenwart von Cu^{2+} schon ab pH 4 Azido-Komplexbildung zeigt, obwohl der freie Ligand selbst über keinen beweglichen Wasserstoff verfügt. Die freigewordenen H^+ müssen demnach dem Milieu entstammen, und wir deuten diese «Pseudo-Azido»-Komplexbildung nach dem folgenden Schema:



Wir konnten ferner bei pH 7–8 einen sehr stabilen, kristallinen hellvioletten Festkörper isolieren, welcher keine Anionen enthält. Picolinaldehyd lässt sich daraus durch Ansäuern unverändert zurückgewinnen. Die Verbrennungsanalyse ergibt die Zusammensetzung $\text{Cu} \cdot (\text{Aldehyd})_2 \cdot (\text{OH})_2$. Auch der Festkörper lässt sich demnach vom stabilisierten Aldehyd-Hydrat ableiten.

Wir nehmen an, dass allgemein die CO-Funktion zweizähliger Liganden der Form III



durch Schwermetallion polarisiert wird, so dass die Anlagerung nukleophiler Partikel des Milieus (zum Beispiel H_2O , Alkohole, Amine) stark begünstigt ist. Bei Carboxyl-Gruppen wird so die Ausbildung stabiler «ortho»-Konfigurationen ermöglicht. Ein solcher Mechanismus wird von Klotz¹ für die metallkatalysierte Hydrolyse von Peptid-Bindungen vorgeschlagen. Die Ester der Picolinsäure zeigen bei der pH-Titration in Gegenwart von Cu^{2+} ein analoges Verhalten wie Picolinaldehyd. Es handelt sich hier offenbar um eine besondere Klasse von Komplexbildnern.

Über eine ausführliche Untersuchung der genannten Phänomene soll demnächst berichtet werden.

¹ I. M. Klotz, Symposium on 'The mechanism of enzyme action' (John Hopkin Press, Baltimore 1954), p. 280.

Dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung danken wir bestens für die gewährte Unterstützung.

P. HEMMERICH, S. FALLAB
und H. ERLÉNMEYER

DISPUTANDUM

Prephensäure als mögliche biologische Vorstufe
von Indolderivaten

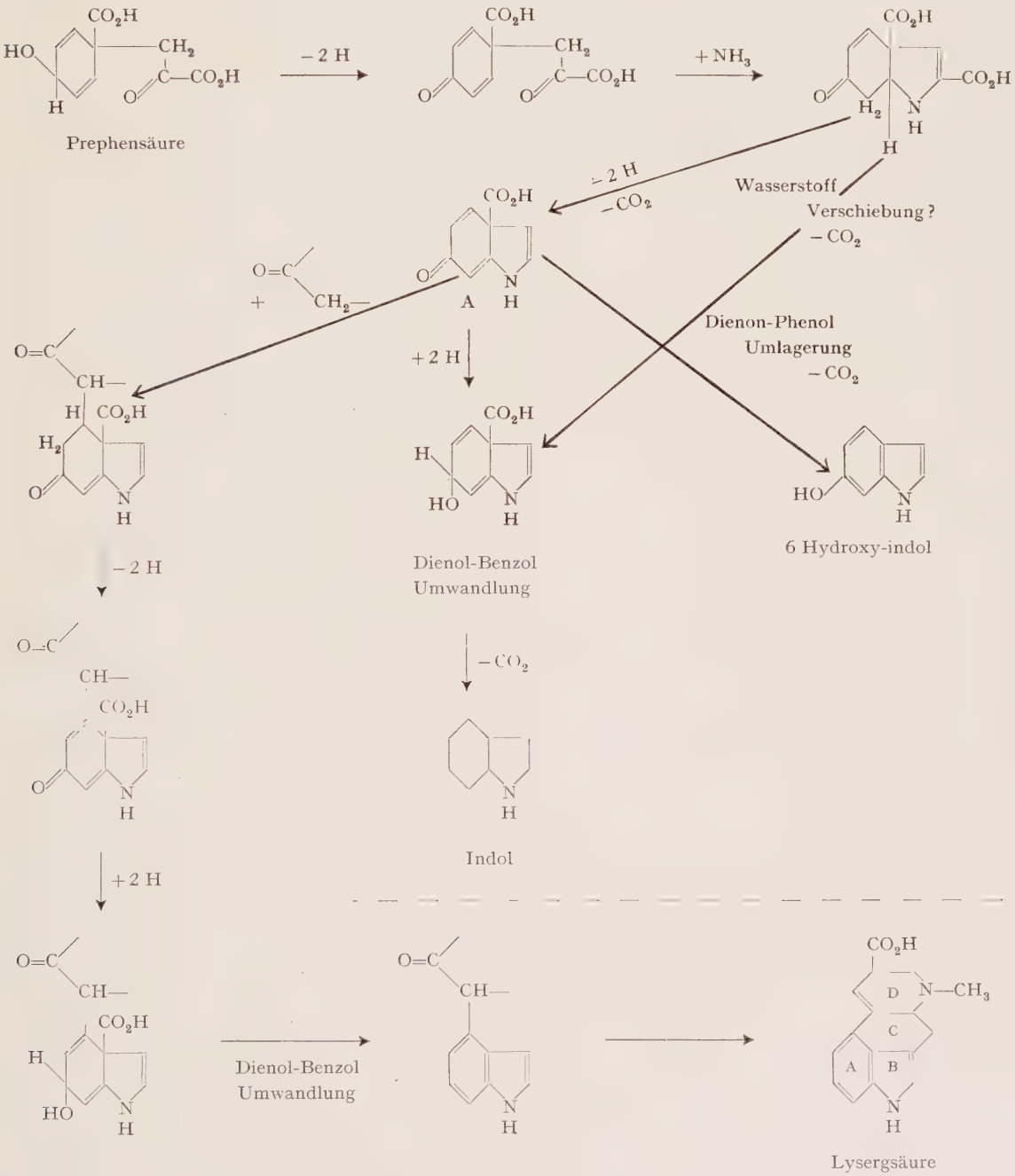
Anstalt für anorganische Chemie der Universität Basel,
23. Oktober 1957.

Summary

The reaction between Cu^{2+} and picoline-aldehyde, which constitutes a new type of chelation, has been studied.

Bekanntlich werden in Mikroorganismen wie Coli-Bakterien¹ oder Fungi wie Neurospora² die Aminosäuren Phenylalanin und Tyrosin über eine alizyklische Dicarbonsäure, die Prephensäure, gebildet, die in saurer Lösung oder enzymatisch sehr schnell in Phenylbrenztraubensäure übergeht.

¹ U. WEISS, C. GILVARG, E. S. MINGIOLI und B. D. DAVIS, Science 119, 774 (1954).
² Vgl. R. L. METZENBERG und H. K. MITCHELL, Arch. Biochem. Biophys. 64, 51 (1956).



Überlegungen zur Biosynthese der Lysergsäure führten zur Prephensäure als möglichem Zwischenprodukt von Indolverbindungen. Wie das Formelschema zeigt, können einfache zellmögliche Reaktionen zu Indol und 6-Hydroxy-indol führen. Eine zentrale Stellung nähme danach das Dienon A ein, das durch Dienon-Phenol-Umlagerung unter CO_2 -Abspaltung in 6-Hydroxy-indol oder nach Reduktion der Ketogruppe in Indol übergehen könnte. Letztere Umwandlung entspricht dem leichten Übergang der Prephensäure in Phenylbrenztraubensäure, eine Reaktion, die auch an einfacheren Modellen verwirklicht wurde³.

Besonders brauchbar erscheint die Hypothese zur Erklärung der Verkettung eines Kohlenstoffatoms an das C4-Atom des Indolgerüsts, wie man sie zur Biosynthese der Lysergsäure fordern muss. Die Verbindung A sollte nach Art einer Michael-Addition eine reaktionsfähige Methylengruppe anlagern können; der weitere Aufbau der noch fehlenden Ringe der Lysergsäure könnte sich so abspielen, wie es HARLEY-MASON in seiner bemerkenswerten Hypothese zur Biogenese der Lysergsäure entwickelt hat⁴. Der Carboxylgruppe am quartären Kohlenstoffatom kommt bei diesen Betrachtungen besondere Bedeutung zu; in alkalischem Medium kann, wie bei der Prephensäure, die Aromatisierung blockiert sein und sich die hier aufgezeigte Additionsreaktion abspielen.

Die Beobachtung², dass ein vor dem Tryptophan blockierter *Neurospora*-Stamm Prephensäure anreichert, spricht für diese Hypothese, die experimentell unterbaut werden soll.

H. PLIENINGER

Chemisches Institut der Universität Heidelberg, 24. Oktober 1957.

Summary

Prephenic acid is discussed as a possible precursor of indol derivatives like tryptophane and lysergic acid.

³ H. PLIENINGER und G. KEILICH, Z. angew. Chem. 68, 618 (1956).

⁴ J. HARLEY-MASON, Chem. and Ind. 1954, 251.

The Hypothesis of Chromatid Interference¹

Chromatid interference (especially when designated as either 'positive' or 'negative') was originally conceived in terms of the effect which an exchange can produce on a single strand, specifically, in terms of the manner in which one exchange point on a given strand influences the occurrence of a second exchange point on the same or a different strand. In early linkage studies on *Drosophila* (when it was believed that crossing-over took place at a 2-strand stage) low values for the coincidence index were interpreted as chromosomal interference which was defined as the influence of one exchange point upon the probability that another exchange point will occur in adjacent regions. With BRIDGES'² discovery that crossing-over occurs at a 4-strand stage it could not be asserted with confidence that the second exchange point did not occur at all, for it might possibly have occurred between the chromatids of the bivalent eliminated in

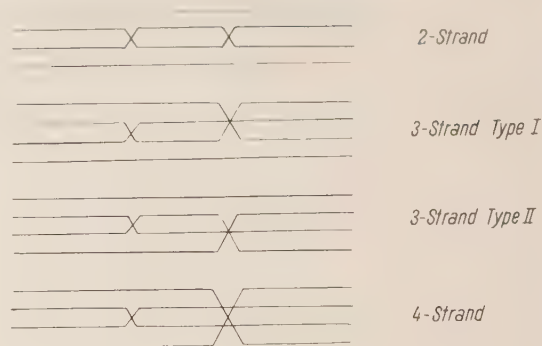


Fig. 1.

oogenesis. Consequently, chromosomal interference could not be distinguished from chromatid interference in single-strand analysis³. On this view, chromosomal interference concerns the probability that a second exchange point occurs at all, whereas chromatid interference concerns the probability that the second exchange point occurs on the same or on a different strand than the first, on the condition that a second exchange point does occur. Chromatid interference when conceived from the point of view of events occurring on a single randomly chosen chromatid is of two kinds: (a) 'positive' chromatid interference, where one exchange point increases the probability that a second exchange point will occur on a different strand (as in a 4-strand double exchange) and (b) 'negative' chromatid interference, where the occurrence of one exchange point increases the probability that it will occur on the same strand (as in a 2-strand double exchange). This conception has been entertained by many writers and sometimes occupies a crucial position in arguments used in drawing inferences from observed data, for example, in certain arguments for sister-strand crossing-over⁴. On this view an excess of 3-strand double exchanges cannot be classified as either 'positive' or 'negative' chromatid interference, although such an excess would represent a specific influence governing the strand position of one exchange relative to another and, hence, must be considered as chromatid interference. An excess or deficiency of 3-strand double exchanges cannot be detected in attached-X analysis since 3-strand double exchanges contribute equally to the two distinguishable arrangements of recombinations which may be observed in 3-point attached-X data. Furthermore, a significant deviation from an equal distribution in the two kinds of 3-strand double exchanges (Fig. 1) must be considered to be chromatid interference even if the total frequency of 3-strand double exchanges is $\frac{1}{2}$. In general, we may define chromatid interference as any ratio of the four kinds of double exchanges different from 1:1:1:1 (or 1:2:1 for the ratio of the probabilities of 2-, 3-, and 4-strand double exchange, if the two kinds of 3-strand double exchanges are not distinguished). It has been proved formally⁵ that a ratio of double recombinations differing significantly from 1:1:1:1 is *a priori* evidence of chromatid interference (defined as any deviation from a similar ratio for double exchanges), thus providing chromatid interference with an operational definition.

¹ This work has been supported by a research grant from the National Cancer Institute of the National Institutes of Health, U.S. Public Health Service, C-1179.

² C. B. BRIDGES, Genetics 1, 1 (1916).

³ E. E. SHULT, Nature 175, 507 (1955).

⁴ D. SCHWARTZ, J. cell. comp. Physiol. 45, Suppl. 2 (1955).

⁵ E. E. SHULT, In manuscript.

The ‘Random’ Ratio

Observed double recombinations occur in a wide variety of ratios and the role of the 1:1:1:1 ratio is not as a prediction, but as a normative criterion by which to judge the presence of mechanisms controlling the alignment of adjacent exchanges on the 4-strand set. It is customary, if a set of events is thought to occur at random in a particular context in a conceptual scheme, to set up a hypothesis based on a certain expected frequency of these events. Any significant deviation from these expected frequencies is assumed to indicate the presence of an additional control operating within the context but not a necessary member of it. How are the expected frequencies determined? In what way are they ‘random’? And on what basis? If each one of a set of events conceptually distinguished in the model is assigned an equal probability then the set of these probabilities are often said to represent a ‘random’ expectation. Since probabilities are assigned only on the basis of a conceptual model, it follows that the ‘random’ ratio depends on the specific conceptual model. There are several conceptual models which may be used to distinguish double exchanges. Consider an array of four chromatids distinguished only as two sets of sister-strands. When two nonsister exchanges occur, three types of double exchanges may be observed although there are four distinguishable arrays (Fig. 1). (Since no further distinction among the chromatids is made, these arrays are drawn with the ‘left’ exchange occurring between the two center strands without loss of generality.) If these four arrays are assumed to occur with equal probabilities, the ratio of double exchanges is 1:1:1:1. (If all four chromatids are distinguished a single nonsister exchange can occur in 4 ways, making 16 kinds of double exchanges and the resultant ratio becomes 4:4:4:4.)

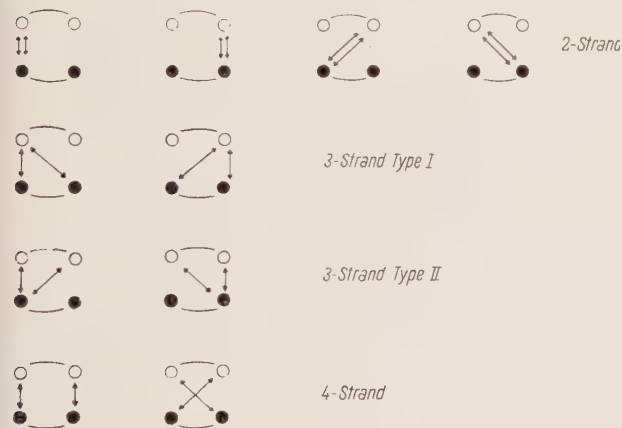


Fig. 2.

If all four chromatids are distinguished but the order of the exchanges is *not* distinguished, it is not possible to tell which is the ‘left’ exchange. (To avoid the bias of ‘ordering’ the two exchanges, the chromatids are drawn in cross section (Fig. 2) with sister strands opposite from each other, their ultimate connection to the same centromere being indicated by a thin arc drawn between them.) If each of these arrays is assumed to be equally probable, the random ratio becomes 2:1:1:1. This model is as valid as that in Figure 1. There is no *unique* ‘random’ ratio. It follows that chromatid interference is defined in terms of a deviation from an *arbitrary* ratio which merely reflects the bias of accepting the first model.

There is no ‘right’ model and it is meaningless to ask whether cross-overs ‘really’ behave according to the first model or the second, since these models are only utilized to obtain a normative standard from which ‘deviant’ behavior of crossing-over is measured.

E. E. SHULT

Biological Research Laboratory, Southern Illinois University, Carbondale, July 11, 1957.

Zusammenfassung

Der Nachweis des Vorkommens von Chromatideninterferenz erscheint dadurch erschwert, dass sich die bei fehlender Interferenz zu erwartende Häufigkeitsverteilung von Zwei-, Drei- und Vierstrang-Doppelaustausch nicht eindeutig formulieren lässt, indem von verschiedenen Modellvorstellungen ausgegangen werden kann, welche verschiedene Häufigkeitsverhältnisse vorsehen lassen.

A Microradiographic Study of Ovarian Dermoid Teeth

Teeth are common constituents of ovarian dermoid cysts, but although such dermoid teeth have been examined histologically in some detail, and their gross radiographic appearance reported with some frequency, an account of their microradiographic structure appears to be wanting. The present report was prompted by other microradiographic studies dealing in particular with the nature of bone tissue in ovarian dermoid cysts¹, and in general with the calcification of cementum and dentin², as well as the vascularity of the developing and adult human tooth³.

The material studied consisted of ground sections (15–25 μ) made from dermoid teeth. The teeth which were eight in number, were slightly yellowish in colour, and embedded in a bony plate that resembled the body of a miniature mandible. In general appearance, size, and shape they imitated normal oral teeth, so that incisors, canines, premolars and molars could be identified. Even though the general course and symptomatology of ovarian teratoids is usually remarkably poor in specific characteristics it was unfortunate that no history accompanied this specimen.

Both contact and projection methods of microradiography were used to study the sections. In the former case a Matchlet type AEG 50 X-ray tube (1 mm Be filter) was used in conjunction with fine grain Lippman film⁴. The ground tooth sections were placed in direct contact with the photographic emulsion and exposures (60 min) made at 5 kV 21 mA, subsequent enlargement of the plate image being obtained optically. The kilovoltage and filter (Be) here mentioned provided an operating wavelength of the order of 2.4 to 4 Å, this region being selected since the calcium K edge which occurs at 3.07 Å falls within this range. Within this wavelength region the organic components exhibit practically no absorption, hence the micrographs ob-

¹ H. RÖCKERT, *Exper.* 13, 142 (1957).
² H. RÖCKERT, *Göteborg Tandläkare Sällskaps Arsbok 1955* (Göteborg Universitet, Sverige), p. 55.
³ R. L. DE C. H. SAUNDERS, *Cambridge Symposium on X-ray Microscopy and Microradiography* (Academic Press, New York 1956).
⁴ A. ENGSTRÖM and L. WEGSTEDT, *Acta radiol.* 35, 345 (1951).

tained showed the calcium distribution within the specimen at optimum contrast.

Tooth sections were also studied by the projection method using the Cosslett-Nixon X-ray microscope⁵. In projection microradiography a point source ($1\ \mu$ or less) of X-rays is used, and the specimen and photographic plate are separated, hence an initial geometrical enlargement ($\times 200$ or more) is easily obtained, followed by further photographic enlargement.

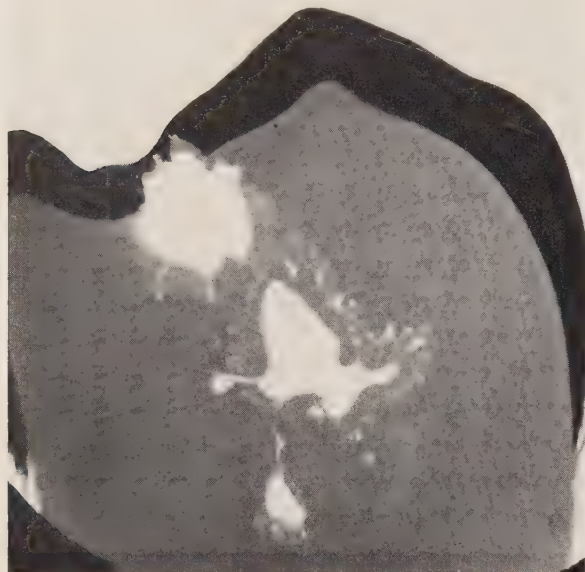


Fig. 1.—Microradiograph of ovarian dermoid tooth to show general features. Note the irregular pulp cavity and less mineralised juxta-pulpal zone (contact print $\times 10$).

The structural features so demonstrated were in general similar to those of the human permanent dentition, in that enamel, dentine, pulp cavity, root canal and cementum were all present (Fig. 1). The enamel image revealed no peculiarities, excepting that a suggestion of Retzius lines (also confirmed histologically) was observed in a small area of the cervical enamel in one instance, and the presence of a large cavity below the coronal enamel of another tooth (Fig. 1). (Better enamel detail could have been obtained with thinner sections but the limited amount of material provoked caution during the grinding process.) This cavity resembled a carious lesion although the state of the surrounding enamel and dentine and mineral distribution therein was inconclusive.

The dentine exhibited the usual radiation of the dentinal tubules. This radiation was formed by well marked dentinal tubules. The dentine was characterised by numerous interglobular spaces and concomitant patchy or irregular mineralisation, both of which were most evident in the region adjacent to the pulp cavity (Fig. 2). Another feature was a distortion of the odontogenetic zone with an apparent broadening (Fig. 3) of the hypomineralised juxta-pulpal zone which normally surrounds the pulp cavity (Fig. 4). The dentinal surface facing on the pulp was strikingly irregular owing to the presence of large vascular incursions; these formed a marked contrast with the minor crenellations occupied

by the subdental capillary plexus as seen in an oral tooth. The spacious pulp cavity was occupied by large vessels that lay in the long-axis of the dermoid tooth. A localised deposition of cementum was evident upon the root and showed no evidence of rhythmical mineralisation.

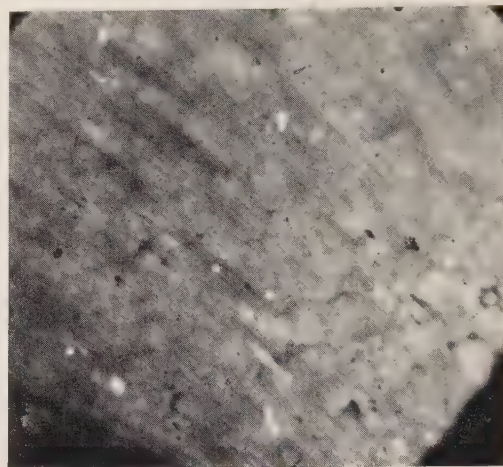


Fig. 2.—Microradiograph of dermoid tooth section showing interglobular dentine and dentinal tubules ($64\times$). White areas correspond to high calcium content.

The development of caries in dermoid teeth has been reported⁶ in view of its possible bearing on the etiology of dental caries through locally acting exogenous agents. No attention, however, has been paid to the nature and possible effect of the intracystic fluids on dermoid teeth, apart from the fact that ovarian cysts may become infected and thereby induce erosion cavities.

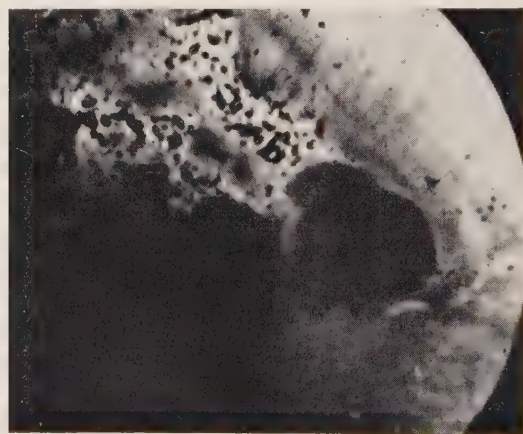


Fig. 3.—Same specimen as previous figure showing juxta-pulpal region.

A deeply placed cavity was here discovered within the enamel and dentine of a dermoid tooth section. Although suggestive of a carious lesion the microradiographic appearances could not be regarded as characteristic, and unfortunately there was insufficient material for further histological study. The cavity here seen might have been part of an irregular pulp cavity.

⁵ V. E. COSSLETT and W. C. NIXON, Proc. roy. Soc. London [B] 110, 122 (1952).

⁶ W. D. MILLER, Dtsch. zahnärztl. Wschr. 1906, 388. — M. E. POTHERAT, Bull. Soc. Chir. Paris 46, 930 (1920). — A. WEDL, Atlas der Pathologie der Zähne (A. Felix, Leipzig 1903).

The structure of the sectioned dentine as revealed microradiographically (Fig. 2) bears a striking resemblance to the microphotograph of imperfectly formed dentine published by ECCLES and HOPEWELL-SMITH⁷ as a feature of dermoid teeth (their Fig. 6). These authors regarded 'the abundance of interglobular spaces' as proof of dentine of an incompletely developed character.

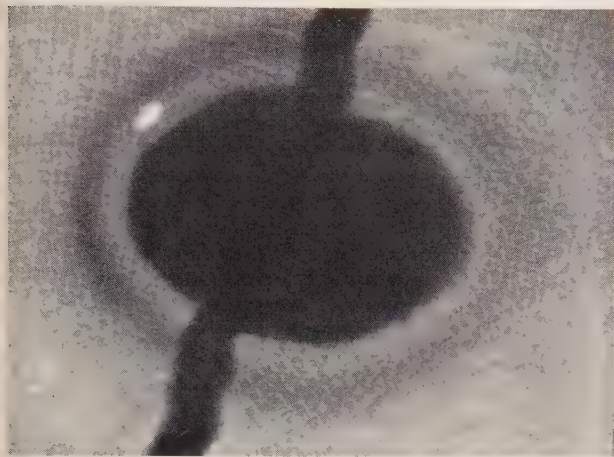


Fig. 4.—Microradiograph of normal oral tooth showing hypomineralised zone of the dentine surrounding pulp (64 ×).

Microradiography suggests that these appearances are due to a chemical (mineralisation) disturbance arising out of vascular (pulpal) abnormality. The juxta-pulpal zone, and vascular surface of the pulp cavity, in dermoid teeth poses the question as to whether the interglobular dentine is a degenerative phenomenon or is formed before the final stage.

H. RÖCKERT and
R. L. DE C. H. SAUNDERS

Department of Histology, University of Göteborg (Sweden) and Department of Anatomy, Dalhousie University, Halifax (Canada), July 29, 1957.

Zusammenfassung

Die Struktur von Zähnen aus ovarialen Dermoidzysten wurde mikroradiographisch mit Röntgenstrahlen untersucht, deren Wellenlängen dem eng begrenzten Absorptionsmaximum von Calcium entsprachen. Dabei zeigten sich im Dentin viele interglobuläre Räume, eine Erweiterung der hypokalzifizierten juxtapulpalen Zone und eine unregelmässige Oberfläche der Pulpa, die auf grossen, vaskulären Ausbuchtungen beruhte. Es wird angenommen, dass diese Erscheinungen auf einer durch die vaskuläre Abnormalität der Pulpa bedingten Störung der Mineralisation beruhen.

⁷ W. Mc A. ECCLES and A. HOPEWELL-SMITH, Proc. roy. Soc. Med. (odont. Sect.) 5, 123 (1912).

Effect of Riboflavin and Nicotinic Acid on Fat Formation by *Penicillium lilacinum* Thom.

The specific effects of addition of riboflavin and of nicotinic acid to cultures of *Fusarium* spp., on fat formation in these moulds have been studied by NORD,

FIGORE, KREITMAN, and WEISS¹. In the case of *Fusarium lini* increase in the iodine value of the fat was the most notable effect observed. Work in this laboratory² has shown that the mould *Penicillium lilacinum* can give high yields of a solid fat of very low free acidity and having an iodine value (I.V.) of about 60.

Table I.—Effect of Riboflavin

Vita-min mg/l	Sugar taken up g/100 ml	Dry felt g/100 ml	Fat g/100 ml	Fat g/100 g of dry felt	Fat g/100 g of sugar utilised	I. V.
0	16.28	4.95	2.38	48.13	14.62	59.41
0.1	16.19	4.90	2.36	48.23	14.57	56.20
1.0	15.75	5.05	2.71	49.93	17.20	61.72
2.5	13.97	4.63	2.18	47.13	15.60	67.11

The value of this fat for certain purposes would be enhanced if its iodine value could be raised. To ascertain whether this could be effected as in the case of *F. lini* additions of riboflavin and of nicotinic acid, respectively, were made to surface cultures of *P. lilacinum* which were grown from spores in a defined medium. This medium was made up with distilled water and contained (g/100 ml): Sucrose, 17; NaNO₃, 0.64; NaH₂PO₄ · 2 H₂O, 0.73; K₂SO₄, 0.011; MgSO₄ · 7 H₂O, 0.5; ZnSO₄ · 7 H₂O, 0.05; FeCl₃ · 6 H₂O, 0.016. The pH value was adjusted with sodium hydroxide to 6.8. The medium in portions each of 25 ml was dispensed in 100 ml conical flasks which, after sterilisation and inoculation were incubated at 25°.

Table II.—Effect of Nicotinic Acid

Vita-min mg/l	Sugar taken up g/100 ml	Dry felt g/100 ml	Fat g/100 ml	Fat g/100 g of dry felt	Fat g/100 g of sugar utilised	I. V.
0	15.49	4.68	2.26	48.23	13.93	61.65
0.1	15.45	4.78	2.28	48.50	14.75	61.53
1.0	15.06	4.99	2.34	46.93	15.54	63.16
2.5	12.72	4.44	1.89	42.70	14.86	68.44

After 5 days, when complete surface mats had been formed, the vitamins were added at concentrations: 0.1, 1 and 2.5 mg/l, respectively. The vitamin solution was added aseptically beneath the fungal mats. Incubation was continued and quintuplicate sets of flasks were withdrawn after 14 days from the time of inoculation for estimation of residual sugar, dry weight of felt, fat content and the iodine value of the fat.

Results are given in Table I and Table II.

With either vitamin at a concentration of 1 mg/l the quantity of sugar taken up was lower and the dry weight of mycelium produced was very slightly higher than in the control. The rate of fat formation was appreciably raised by riboflavin but not by nicotinic acid, with slight increase in the iodine value in both cases. With 2.5 mg/l, there was suppression in rate of sugar uptake but the rate of growth was not suppressed to the

¹ F. F. NORD, J. V. FIGORE, G. KREITMAN, and S. WEISS, Arch. Biochem. 23, 480 (1949).

² J. SINGH, SHAH SUDHA, and T. K. WALKER, Biochem. J. 62 222 (1956).

same extent, probably due to lower rate of respiration. Fat formation at this concentration was retarded but the iodine value markedly increased. NORD *et al.*¹ using riboflavin at 0.8 mg/l and nicotinic acid at 0.5 mg/l obtained similar results with *Fusarium lini* but not with pigmented *F. lycopersici*. In the latter case both vitamins promoted growth and fat formation but did not appreciably affect the iodine value. The results yielded by *P. lilacinum* are evidence that this mould is able, as is *F. lini*, to incorporate both riboflavin and nicotinic acid in its dehydrogenating systems implicated in fat synthesis.

The author wishes to thank Professor T. K. WALKER for his interest in the work.

K. NAGUIB

College of Science and Technology, University of Manchester, September 9, 1957.

Résumé

L'addition de riboflavine ou d'acide nicotinique aux cultures de *Penicillium lilacinum* Thom. a augmenté remarquablement la valeur iodique de la graisse formée. Mais c'est seulement la riboflavine, qui a accéléré la formation de la graisse.

Aminosäuren als gallenerregende Stoffe der Reblaus (*Viteus [Phylloxera] vitifolii* Shimer)

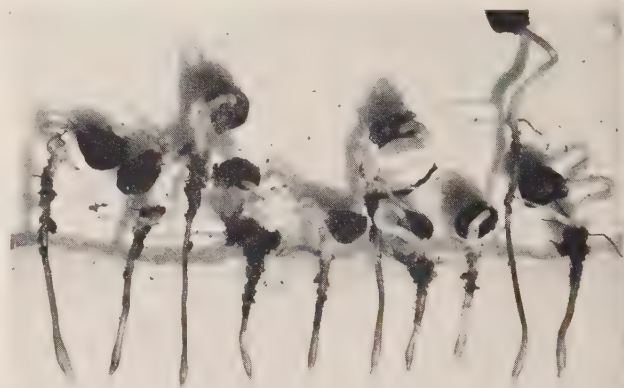
Während über die biologische Wirkung des galleninduzierenden Sekretes der Reblaus bereits eine ganze Reihe aufschlussreicher Ergebnisse vorliegt, ist über dessen chemische Natur bisher noch nichts bekannt¹. Diese Untersuchungen über die stofflichen Grundlagen der Reblaus-Cecidogenese konnten erst in Angriff genommen werden, nachdem die experimentelle Galleninduktion an der Wurzelspitze von Vitis-Sämlingen zu einem brauchbaren Test weiterentwickelt wurde² (vgl. die Abbildung).

Für die Analyse der wirksamen Bestandteile im Reblaus-speichel wurden die einzelnen Sekrettröpfchen von mehreren Tausenden von Blatt-Rebläusen (Material aus 5 Gewächshäusern und etwa 20 a Freiland-Gallenkultur) in destilliertem Wasser oder in Filterpapier gesammelt und zunächst unter Beachtung vorher erarbeiteter Kautelen bis zur Aufarbeitung aufbewahrt. Nach groben Schätzungen und Vergleichswägungen standen für die Aufarbeitung insgesamt etwa 0,4 mg und für die im folgenden näher beschriebenen Versuche etwa 0,2 mg reinen Reblaus-speichels zur Verfügung.

¹ F. ANDERS, Exper. 11, 322 (1955); Verh. dtsch. zool. Ges. Erlangen 1955, 421; Exper. 13, 29 (1957); Naturwissenschaften 44, 95 (1957). – Auch von anderen Autoren, so in letzter Zeit insbesondere von H. H. HOPP, Weinwissenschaft 9, 9 (1955); Zusammenfassung bei B. Götz, Weinberg und Keller 3, 126 (1956), wurden Untersuchungen über die galleninduzierenden Stoffe der Reblaus in Angriff genommen; doch wurden diese Versuche fast ausschliesslich mit Preßsäften und Extrakten aus ganzen Tieren durchgeführt, wodurch die Ergebnisse dieser Autoren in wesentlichen Punkten von den unseren abweichen.

² F. ANDERS, Naturwissenschaften 44, 95 (1957).

Im Verlaufe der Arbeiten wurde nun unsere Aufmerksamkeit aus einer ganzen Reihe sehr heterogener Gründe, die hier nicht näher erörtert werden können, auf die Stoffgruppe der Aminosäuren gelenkt, wobei sich schon in Vorversuchen herausstellte, dass der Reblaus-speichel im Vergleich mit Preßsäften aus ganzen Rebläusen eine sehr kräftige Ninhydrinreaktion zeigt. Auch Vergleichsreaktionen mit bekannten Substanzgemischen liessen eine für tierische und pflanzliche Objekte ungewöhnlich hohe Konzentration ninhydrinpositiver Körper im galleninduzierenden Sekret vermuten. Es wurden deshalb in zwei Versuchen je etwa 0,1 mg reinen Reblaus-speichels mit kurzer Laufstrecke auf schmalen Streifen (wegen der für normale Analysen äusserst geringen Substanzmenge) in Phenol bzw. Patridge-Gemisch eindimensional aufsteigend chromatographiert (SCHLEICHER und SCHÜLL, Nr. 2043 BM) und mit Ninhydrinreagens besprüht. Auf diese Weise wurden in beiden Fällen übereinstimmend je drei ninhydrinpositive Körper gefunden, bei denen es sich nach Vergleichschromatogrammen mit einzelnen Aminosäuren bzw. Aminosäurengemischen um Lysin, Histidin und Tryptophan handelte.



Rebensämlinge im Keulen- bzw. Wurzelgallentest mit Aminosäuren des galleninduzierenden Sekrets der Reblaus.

Histidin konnte ausserdem an der blauen Fluoreszenz, die übrigens schon am nativen Reblaussekret zu beobachten ist, identifiziert werden. Tryptophan, dessen Fluoreszenz infolge der geringen Substanzmenge nicht mehr eindeutig erkennbar war, konnte darüber hinaus in anderen Versuchen nach WINKLER und PETERSEN³ bestimmt werden. Lysin war bereits in Vorversuchen an der nach Besprühen eines Chromatogrammes mit Folins Reagens auftretenden charakteristischen Färbung («dunkeltaubenblau»)⁴ erkannt worden. Das Vorhandensein des stark basischen Lysins und der beiden heterozyklischen Verbindungen Histidin und Tryptophan steht mit dem relativ hohen pH-Wert des Sekretes von fast 9 in gutem Einklang.

Neben diesen drei genannten Aminosäuren, die im Chromatogramm weitaus vorherrschend sind, finden sich offenbar noch zwei weitere, vermutlich Glutaminsäure und Valin, im Reblaus-speichel. Eine exakte Identifizierung dieser beiden Substanzen ist jedoch erst nach

³ S. WINKLER und S. PETERSEN, Hoppe-Seylers Z. 231, 210 (1935). – S. WINKLER, Z. anal. Chem. 105, 303 (1936).

⁴ E. Merck AG (Darmstadt), Chromatographie.

Verarbeitung einer grösseren Sekretmenge möglich, wobei sich dann möglicherweise auch noch weitere – allerdings in unvergleichlich schwächerer Konzentration vorliegende – freie Aminosäuren nachweisen lassen.

Quantitative Untersuchungen über den Aminosäuregehalt des galleninduzierenden Sekretes der Reblaus stehen zwar noch aus, doch lassen sich an Hand von Vergleichschromatogrammen mit bekannten Lösungen grobe Schätzwerte angeben. Ein solcher Vergleich zeigt, dass rund 0,1 mg reinen Reblaussekretes etwa 5–10 γ Lysin, die gleiche Menge (vielleicht etwas weniger als Lysin) Histidin und etwas weniger Tryptophan enthält, was bei sehr vorsichtiger Schätzung einer für biologische Lösungen ungewöhnlich hohen Aminosäurekonzentration von insgesamt wenigstens 10% entspräche.

Durch diesen Nachweis der Aminosäuren im Sekret der Reblaus ist nun allerdings noch nicht bewiesen, dass diese auch die cecidogenen Agenzien sind, zumal auch noch andere Stoffe, zum Beispiel mehrere Zucker, gefunden wurden. Es wurden deshalb zunächst die genannten fünf sowie weitere 15 ausgewählte Aminosäuren einzeln auf ihre galleninduzierende bzw. keulenbildende Potenz⁵ an Wurzelspitzen von Vitis-Sämlingen getestet. Dabei zeigte sich, dass zwar viele Aminosäuren in einem geeigneten Lösungsverhältnis Wurzelverdickungen auszulösen vermögen, doch konnte in keinem Falle eine den natürlichen Substanzen der Reblaus entsprechende starke Wirkung beobachtet werden. Lediglich Tryptophan vermag stärkere Anschwellungen der Wurzelspitze («Wurzelkeulen») hervorzurufen, die jedoch denen, die durch das Reblaussekret verursacht sind, wesentlich an Umfang und Ausdehnung nachstehen.

In den weiteren Versuchen wurden nun Substanzgemische geprüft. Dabei zeigte die Kombination von Glutaminsäure, Histidin und Tryptophan eine so starke keulenbildende Wirkung, dass Ausdehnung und Umfang der hierdurch verursachten Anschwellungen an manchen Rebensämlingen selbst von echten Gallen der Wurzelspitze (sogenannte Nodositäten) nicht mehr übertroffen werden. Auch zytologisch herrscht nach den bisherigen Untersuchungen volle Übereinstimmung. Ein Unterschied besteht lediglich darin, dass erstere infolge meist allseitiger Einwirkung der Agenzien symmetrisch und letztere wegen der lokalen Injektion durch den Parasiten asymmetrisch gestaltet sind. Lysin und Valin verstärken diesen Effekt nur noch unwesentlich. Die beigegebene Abbildung veranschaulicht die Wirkung einer 0,025-prozentigen wässrigen Lösung von Lysin, Glutaminsäure, Histidin, Tryptophan und Valin, die im Keulentest geprüft wurde (Aufnahme 48 h nach Versuchsbeginn).

Wenn nun auch nicht mehr daran gezweifelt werden kann, dass die Reblausgalle allein oder doch wenigstens vorwiegend durch die im Speichelsekret des Parasiten enthaltenen Aminosäuren verursacht wird, so bestehen doch noch erhebliche Diskrepanzen hinsichtlich der optimal wirksamen Konzentration der künstlichen Gemische im genannten Test, die bei dem niedrigen Wert von etwa 0,0075 bis 0,05% liegt und der ausserordentlich hohen Konzentration im reinen Sekret (siehe oben). Indessen ist diese Unstimmigkeit nur eine scheinbare, denn bei der natürlichen Injektion des Sekretes durch die Reblaus sowie auch bei lokaler künstlicher Applikation dringt der Reblaussekret auf Grund seiner hygroskopischen Natur zunächst rein passiv in einen grösseren

Bereich des Wirtsgewebes vor⁶, wobei er wahrscheinlich sehr bald so stark verdünnt wird, dass sich auch hier die im Test ermittelte optimal wirksame Konzentration einstellt. Aus diesem Grunde sind auch unsere Versuche zur experimentellen Gallenbildung durch lokale Applikation mit künstlichen Substanzgemischen sowohl an der Wurzel als auch am Blatt der Rebe nur dann erfolgreich verlaufen, wenn hohe Aminosäurekonzentrationen verwendet wurden.

Es bleibt nun noch die Frage nach der Herkunft der galleninduzierenden Aminosäuren zu erörtern, zumal unsere frühere Auffassung, das cecidogene Agens sei ein Sekret der Speicheldrüse, nach den vorliegenden Befunden unwahrscheinlich geworden ist. Die ungewöhnlich hohe Konzentration der Aminosäuren sowie auch der Nachweis eines proteolytischen Verdauungsfermentes bei der Reblaus⁷ lassen vermuten, dass die gefundenen galleninduzierenden Stoffe kein Sekret der Speicheldrüse, sondern in Wirklichkeit Spaltprodukte der Nahrungsproteine darstellen, die vom Parasiten nicht vollständig verwertet werden können. Sie werden daher offenbar als Exkrete – die Reblaus hat keinen After – durch das Speichelrohr ausgeschieden. Diese sehr wahrscheinliche Annahme, dass die gefundenen Aminosäuren Exkretionsprodukte sind, findet eine – evolutionistisch gesehen – interessante Parallele bei gewissen Mutanten von *Ephesia* und auch wohl *Drosophila*, bei denen unter anderem auch Tryptophan – eine offenbar starke Wirkungskomponente der Reblauscecidogenese – im Exkret ausgeschieden wird⁸.

Die Untersuchungen werden an Gallen anderer Insekten sowie an gewissen Tumoren, die viele Parallelen zur Cecidogenese aufweisen, fortgesetzt.

Den Herren Dr. BAYER und Dr. RADLER von der biochemischen Abteilung unseres Institutes danke ich für die bereitwillige Hilfe bei der Versuchsanstellung.

Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

F. ANDERS

Forschungsinstitut für Rebenzüchtung, Geilweilerhof, Siebeldingen (Pfalz), 24. September 1957.

Résumé

Les sécrétions salivaires du Phylloxéra contiennent à un très haut degré de concentration les acides aminés suivants: la lysine, l'histidine et la tryptophane; deux autres acides aminés – vraisemblablement l'acide glutamique et la valine – s'y trouvent à l'état moins concentré. Ces substances appliquées expérimentalement sont capables de provoquer la formation des galles de la vigne tout aussi bien que les sécrétions naturelles du Phylloxéra. Pour cette raison, il semble suffisamment prouvé que ces substances sont identiques à l'agent cécidogène du Phylloxéra ou qu'elles représentent au moins sa composante la plus efficace.

⁶ F. ANDERS, Verh. dtsch. zool. Ges. Erlangen 1955, 421.

⁷ J. L. PRINC, Moskau 1950; zit. nach B. GÖTZ, WEINBERG und KELLER 3, 126 (1956).

⁸ P. S. CHEN und A. KÜHN, Z. Naturf. 11b, 305 (1956). – A. EGEL-HAAFF, Z. Naturf. 12b, 465 (1957).

⁵ F. ANDERS, Naturwissenschaften 44, 95 (1957). – Wurzelkeulen, zum Beispiel auch C-Tumoren [A. LEVAN, Hereditas 24, 471 (1938)] und die Gallen an der Wurzelspitze der Rebe können als prinzipiell gleichwertige Gebilde betrachtet werden.

Über Adsorption von Elastase an synthetischem Natriumaluminiumsilikat

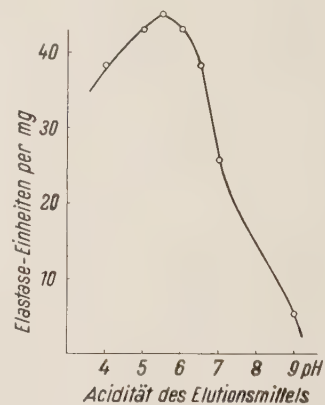
BALO und BANGA¹ haben im Jahre 1949 ein neues Enzym aus Rinderbauchspeicheldrüsen bekannt gemacht, das zu Abbau und Auflösung des spezifischen Eiweisses der elastischen Fasern aus der Aortawand fähig ist². Die Verfasser haben die Extraktion und partielle Reinigung der neuen Pankreasprotease beschrieben und das Enzym «Elastase» benannt³. Im Jahre 1952 gelang es BANGA, ein kristallisiertes Enzympräparat durch Verwendung der klassischen Aussalzungsmethode darzustellen⁴. Die nach BANGAS Verfahren hergestellte Elastase diente als brauchbares Ausgangsmaterial⁵ für viele Versuche. Das kristallisierte Enzym besass aber neben seinen Vorteilen auch nachteilige Eigenschaften. Die Ausbeute des kristallinen Produktes war besonders ungünstig: es erreichte kaum 3–4% der Enzymaktivität des Ausgangsmaterials.

In unseren Versuchen zur Reinigung und Isolierung von Elastase wurde die Adsorption des Enzyms an verschiedenen Adsorptionsmitteln untersucht. Es wurde beobachtet, dass die Elastase sich aus schwach sauer wässriger Lösung an gewisse Adsorptionsmittel, zum Beispiel an aktivierte Kohle oder verschiedene Zeolithe gut adsorbiert, in nur geringem Grade aber an Bentonit und saure Kunstharz-Austauscher. Im folgenden wird die Adsorption des Enzyms an synthetischem Zeolith beschrieben.

100 g durch Azeton entfettetes und getrocknetes Pankreaspulver (Pankreatin Richter, Budapest) wurde in zwei Stufen mit insgesamt 2 Liter einer 0,1 M Azetatlösung von pH 4–7 extrahiert. Die Extraktion wurde bei Raumtemperatur nach Befeuchtung und Zerkleinerung des Organpulvers unter 1–2stündigem Rühren durchgeführt. Nach Abzentrifugieren der unlöslichen Organreste wurden die Extrakte vereinigt und durch ein hartes Faltenfilter filtriert. Die wasserklare, hellgelbliche Enzymlösung wurde nun mit einer Geschwindigkeit von 8 bis 10 cm³/min durch eine Säule aus synthetischem Natriumaluminiumsilikat filtriert. Die Kolonne hatte einen Durchmesser von 50 mm, eine Höhe von 50 bis 60 cm und enthielt etwa 300 g Decalso (Permutit Co., London), das vorher mit einer 3 M Ammoniaklösung aktiviert worden war. Das überschüssige Ammoniak wurde vor Beginn der Adsorption durch 0,01 M Salzsäure entfernt und die Kolonne mit destilliertem Wasser gewaschen. In der durch die Kolonne filtrierten Enzymlösung ist nur noch eine geringe Enzymaktivität nachweisbar. Die Adsorption hat einen Wirkungsgrad von 85–95%. Die Kolonne wurde nach Beendigung des Adsorptionsprozesses mit einer 0,2 M Azetatlösung von pH 4–7 und mit destilliertem Wasser gewaschen.

Wir versuchten die Elution des Enzyms mit verschiedenen Lösungsmitteln und bei verschiedenen pH-Werten. Die Abbildung zeigt den Zusammenhang zwischen den pH-Werten des Elutionsmittels und der Aktivität der eluierten Elastase. Daraus geht klar hervor, dass die bei alkalischer Reaktion durchgeführte

Elution zu ungünstigen Resultaten führt, indem die Aktivität des Endproduktes beträchtlich abnimmt, obwohl keine Denaturierung stattfindet. Unter den zur Elution verwendeten Lösungsmitteln erwies sich eine 40–45% (V/V) wässrige Äthyl- oder Methylalkohollösung, die 8–12% Ammoniumazetat enthielt, als das beste. Das Enzym wurde mit 600 cm³ dieser alkoholischen Salzlösung eluiert. Nachher wurde es aus dieser Lösung bei einer Temperatur von –2 bis –6°C durch Zusatz des dreifachen Volumens absoluten Äthylalkohols ausgefällt. Der Niederschlag sedimentierte in einigen Stunden. Nach Absaugen der klaren Lösung wurde der Niederschlag im Kühlraum abzentrifugiert, danach in einer 0,01 M Azetatlösung von pH 5–6 gelöst und das Enzym im gefrorenen Zustande getrocknet.



Aktivität der eluierten Elastase in Abhängigkeit von der Azidität des Elutionsmittels

Die durch die beschriebene Methode hergestellten Elastasepräparate enthielten 40–70 E.E. (Elastase-Einheiten) pro mg. Sie übertreffen die Aktivität des kristallinen Enzympräparates. Die Ausbeute des Adsorptionsverfahrens beträgt 30–50%, ist also besser als bei den in der Literatur veröffentlichten Verfahren. Papier-elektrophoretisch ist das Enzympräparat nicht homogen. Dies steht in Übereinstimmung mit den früheren Angaben von HALL⁶. Wir haben beobachtet, dass die Löslichkeit der einzelnen Komponenten, wie zum Beispiel jene der Elastomucoproteinasen⁷, unter bestimmten Umständen verschieden ist. Auf dieser Basis ist ihre Isolierung im Gange.

Ausführliche Angaben werden in Acta physiol. hung. erscheinen.

D. BAGDY und I. BANGA

Forschungsinstitut für Pharm. Industrie, Budapest und I. Institut für Pathologische Anatomie und Experimentelle Krebsforschung der Medizinischen Universität, Budapest, den 2. Mai 1957.

Summary

We have described an adsorption method for the isolation of elastase. With this method, the yield of the enzyme is better and the purity is greater than with the methods described previously.

⁶ D. A. HALL, Biochem. J. 55, 25 (1953).

⁷ I. BANGA und J. BALÓ, Nature 178, 310 (1956).

¹ J. BALÓ und I. BANGA, Schweiz. Z. Path. Bakt. 12, 350 (1949).

² J. BALÓ und I. BANGA, Biochem. J. 46, 384 (1950).

³ J. BALÓ und I. BANGA, Nature 164, 491 (1949).

⁴ I. BANGA, Acta physiol. hung. 3, 317 (1952).

⁵ D. A. HALL und J. E. GARDINER, Biochem. J. 59, 465 (1955). – S. M. PARTRIDGE und H. F. DAVIS, Biochem. J. 61, 21 (1955). – L. ROBERT und P. SAMUEL, Exper. 13, 167 (1957).

Aktivität Eiweiss spaltender Enzyme in Fischen

Über Enzymaktivitäten in Fischen ist bisher ausserordentlich wenig bekannt (Übersicht bei ¹), obwohl die nähere Kenntnis von Fischenzymen aus theoretischen (Kaltblüter-Stoffwechselphysiologie) wie praktischen Gründen (Fische als Nahrungsmittel) bedeutsam sein sollte. In dieser Arbeit wird über die Aktivität einiger Eiweiss- und Peptide-spaltender Fermente berichtet.

Methodik. Zur Untersuchung kamen im März/April in der Nordsee gefangene Fische; innerhalb weniger Minuten nach Tötung wurden Extrakte mit 1prozentigem KCl + 0,001 M Versen hergestellt und nach Standardmethoden untersucht: Kathepsin und neutrale Proteinase nach der Anson-Methode², Peptidasen unter Standardbedingungen³ mittels Ninhydrinreaktion⁴, Gesamtstickstoff nach dem Mikro-Kjeldahlverfahren.

Tabelle I

Kathepsinaktivität in Geweben von Fischen und Säugetieren (Mittelwerte aus mindestens 3 Bestimmungen; in alkalischer Harnstofflösung denaturiertes Hämoglobin als Substrat; pH 4,0 mit 0,2 M Acetat; 37°)

Tierart	Gewebe	mg Tyrosin freigesetzt/h	
		je g Frischgewicht	je mg Gesamt-N
Dorsch . . .	Muskulatur	0,94	0,09
Dorsch . . .	Leber	6,09	0,78
Dorsch . . .	Milz	27,5	2,47
Dorsch . . .	Magen-Darmtrakt	5,33	0,36
Hering . . .	Muskulatur	0,46	0,05
Hering . . .	Leber	11,1	0,74
Hering . . .	Milz	31,7	1,70
Hering . . .	Magen-Darmtrakt	9,53	0,79
Seezunge . .	Muskulatur	0,57	0,08
Scholle . . .	Muskulatur	1,04	0,18
Ratte	Muskel	0,11	
Ratte	Leber	1,81	
Ratte	Milz	4,70	
Schwein . . .	Muskel	0,07	
Schwein . . .	Leber	0,91	
Schwein . . .	Milz	2,80	
Rind	Muskel	0,09	
Rind	Leber	2,17	
Rind	Milz	2,98	
Kaninchen . .	Muskel	0,05	
Kaninchen . .	Milz	8,28	

Ergebnisse. In Tabelle I sind die Zahlen über die *Kathepsin*-Aktivitäten in lebendfrischen Fischen zusammengestellt. Diese sind wesentlich höher als in den entsprechenden Geweben von Säugetieren, die unter den gleichen experimentellen Bedingungen gemessen wurden. Im Vergleich mit Säugetieren (Rind, Schwein, Kaninchen und Ratte) findet sich pro Gramm Frischgewebe 5mal mehr *Kathepsin* in der Leber, 6mal mehr in der Milz und 10mal mehr in den Muskeln der untersuchten Fischarten. Unter der Annahme üblicher Q_{10} -Werte bedeutet dies, dass Fische bei etwa + 7° Körpertemperatur über etwa die gleiche proteolytische Wirkung in ihren Organen verfügen wie Säugetiere bei 37°.

¹ G. HAMOIR, Adv. Protein Chem. 10, 227 (1955).
² M. LASKOWSKI, in COLOWICK-KAPLAN, *Methods of Enzymology*, Bd. 2 (New York, 1955), S. 26.
³ E. L. SMITH, in COLOWICK-KAPLAN, *Methods of Enzymology*, Bd. 2 (New York 1955), S. 83, 93.
⁴ S. MOORE und W. H. STEIN, J. biol. Chem. 211, 907 (1954).

Auffälligerweise fehlt in Milz, Leber und Muskel von Fischen jegliche Aktivität einer *neutralen Proteinase*, die in diesen und anderen Organen von Rind, Kaninchen und Ratte in etwa gleich grosser Aktivität wie das *Kathepsin* vorkommt⁵. Erst wenn nach 3–5wöchiger Kühlung der Fischmuskel deutlich bakteriell verdorben ist (100–500 Millionen Bakterien je ml Extrakt), tritt eine bei pH 7,6 aktive Proteinase auf, die ihren Ursprung vermutlich in den Mikroorganismen hat. Ihre Aktivität erreicht nur rund 40% derjenigen des Fischmuskel-Kathepsins.

Tabelle II

Glycylglycin-Dipeptidase-Aktivität in Fisch- und Säugetierorganen

Tierart	Gewebe	μ Mol Glycylglycin gespalten/h/mg Gesamt-N/37°	Bemerkungen
Schwein	Niere	110	<i>a</i>
Scholle	Muskulatur	57	<i>b</i>
Kaninchen . . .	Herzmuskel	49	<i>a</i>
Seezunge	Muskulatur	49	<i>b</i>
Mensch	Uterusmuskel	48	<i>a</i>
Dorsch	Muskulatur	35	<i>b</i>
Ratte	Muskulatur	24	<i>a</i>
Kaninchen . . .	Muskulatur	12	<i>a</i>
Schwein	Dünndarm	11	<i>a</i>
Kaninchen . . .	Uterusmuskel	3	<i>a</i>

a = Werte der Literatur⁸; *b* = eigene Messungen.

Dieses wiederum wird in seiner Aktivität durch die mehrwöchige Kühlung nicht verändert. Eine Überschlagsrechnung zeigt zudem, dass die in 1 g frischer Fischmuskulatur vorhandene *Kathepsin*aktivität ausreicht, um theoretisch innerhalb 24 h bei 37° 290 mg Protein abzubauen, also fast doppelt soviel, wie 1 g Fischmuskel an Proteinen enthält (rund 150 mg). Obwohl diese Abbauwerte in der Praxis nie erreicht werden können, illustrieren die Zahlen jedoch sehr eindringlich, dass die bekannte, überaus leichte Verderblichkeit des Fischfleisches durch die gewebeeigenen Enzyme erklärt werden kann.

Decarboxylasen für Glutaminsäure und Asparaginsäure sind bisher noch nie in tierischen Organen gefunden worden (Ausnahme: γ -Aminobuttersäure-Bildung in Säugetierhirngewebe). Da jedoch beim Fischverderb die Decarboxylierungsprodukte γ -Aminobuttersäure und β -Alanin frühzeitig auftreten⁶, wurden Fischmuskel-extrakte mit Glutaminsäure bzw. Asparaginsäure in Gegenwart von Pyridoxal-5'-phosphat bei 37° inkubiert und anschliessend papierchromatographisch untersucht; γ -Aminobuttersäure und β -Alanin sind unter diesen Bedingungen nicht auffindbar. Das Auftreten von γ -Aminobuttersäure in gelagerten Fischen bedeutet daher nach unseren Erfahrungen das Vorliegen einer bakteriellen Verunreinigung, da frische Fischmuskeln keine γ -Aminobuttersäure zu bilden vermögen. β -Alanin hingegen kann auch aus einer Spaltung von Anserin durch Anserinase⁷ entstehen und ist daher kein Indikator einer bakteriellen Verunreinigung.

Glycylglycin-Dipeptidase kommt in Fischmuskeln ebenso wie *Kathepsin* in recht hoher Aktivität vor. In

⁵ G. SIEBERT und E. ADLOFF, unveröffentlichte Versuche.
⁶ E. RANKE und F. BRAMSTEDT, Arch. Fischereiwiss. 6, 193 (1955). – E. RANKE, B. RANKE und F. BRAMSTEDT, Arch. Fischereiwiss. 6, 343 (1955).
⁷ N. R. JONES, Biochem. J. 60, 81 (1955).
⁸ E. L. SMITH, J. biol. Chem. 173, 571 (1948). – D. S. ROBINSON, S. M. BIRNBAUM und J. P. GREENSTEIN, J. biol. Chem. 202, 1 (1953).

Tabelle II sind eigene Messungen (mit *b* bezeichnet) zusammengestellt; sie werden mit Daten aus der Literatur⁸ (mit *a* bezeichnet) verglichen, die auf entsprechende Reaktionsbedingungen umgerechnet wurden. Man sieht, dass die Aktivitäten in Fischmuskeln an der oberen Grenze der für verschiedene Säuger-Muskelgewebe erhaltenen Daten liegen. Berechnet auf molarer Basis vermögen Fischmuskelextrakte 77mal mehr Glycylglycin zu spalten, als durch Kathepsin aus Hämoglobin Tyrosin freigesetzt wird. Sollten andere Peptidasen des Fischmuskels ähnlich hohe Aktivitäten besitzen (was noch untersucht werden soll), so ist anzunehmen, dass katheptische Spaltprodukte von Peptidnatur im Fischmuskel alsbald zu Aminosäuren aufgespalten werden.

Die bisher erhaltenen Daten werden ausführlich an anderer Stelle publiziert.

Der Verfasser dankt der Research Corporation, New York und dem Ernährungswissenschaftlichen Beirat der Deutschen Fischindustrie für die Unterstützung der Arbeit, ferner der Firma Hoffmann-La Roche für Pyridoxal-5'-phosphat.

G. SIEBERT

Physiologisch-chemisches Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, 10. September 1957.

Summary

Fresh tissues from sea fishes show much higher activities of cathepsins than the corresponding mammalian tissues. The significance of these findings is discussed. There is no indication for the presence in fresh extracts of fish muscle of either proteinases with a pH optimum near neutrality or of decarboxylases for glutamic and aspartic acids. The activities of glycylglycine dipeptidase in fish muscle are found to be at the upper limit of the values obtained by other workers with mammalian tissues.

Role of Catalase in Heinz Body Formation

The most probable theory explains the Heinz body formation as a degradation process of certain cell components caused by hydrogen peroxide, which accumulates if catalase is inhibited by several materials¹. Exogenous hydrogen peroxide does actually produce Heinz bodies in potassium cyanide poisoned red cells². On the other hand, catalase acts in certain circumstances peroxidatically³, and such an effect of the catalase is also present in connection with catalase poisons. Catalase poisons, such as aniline and 2,4-dichlorophenol, inhibit not only the catalase, but the inhibitor also changes in the presence of catalase and peroxide⁴.

It is possible that inhibited catalase may also have an active role in the Heinz body formation, and therefore the possibility of Heinz body formation in red cells without catalase or with a low catalase content must be investigated.

Catalase inhibition by potassium chlorate is irreversible⁵, and therefore the potassium chlorate treatment of red cells seemed to be a suitable method to

obtain red cells with a low catalase content⁶. In this experiment, 0.5 ml of washed human red cells were incubated at 37.0°C with 0.2 ml of 1.9% potassium chlorate and 0.8 ml of *M*/15 phosphate buffer of pH 7.0. At different times, the red cells were washed with physiological saline 3 times. In this manner red cells were gained with about 50% (60 min), 40% (90 min) and 30% (120 min) catalase content.

To 0.5 ml of treated and washed red cells, a like amount of citrate plasma and 1.0 ml of 1.0% potassium cyanide and, after 5 min, 1.0 ml of 1.0% hydrogen peroxide were added. Hydrogen peroxide was dissolved in *M*/15 phosphate buffer of pH 7.0. The experiment was carried out at 37.0°C. Samples taken after 30 min were stained by Wolfer's staining technique with methyl violet⁷.

This experiment has shown that if red cells are incubated with potassium chlorate 60 min before the cyanide-peroxide test, Heinz bodies still appear, as a rule, in the majority of the red cells. If the treatment is finished in the 90th min, Heinz bodies appear only in few cells.

In a previous paper, an experiment was described which has suggested that the role of catalase inhibitor cannot be limited to the catalase inhibition, but it plays a direct role in the Heinz body formation². The present study has given evidence that the necessary conditions for Heinz body formation, besides the inhibitor and peroxide, is the sufficient quantity of catalase. For these reasons, it appears plausible that the Heinz bodies are produced as a result of the interaction of catalase, inhibitor and hydrogen peroxide. In this process, not only peroxide is used as a substrate but also the inhibitor. The former is used by the catalase function of the catalase, the latter by the peroxidase function of the catalase. In this way, both mechanisms act together and both are responsible for Heinz body formation, and when the catalase oxidizes its inhibitor peroxidatically, it does the same with certain cell components.

L. MAGOS

State Institute of Occupational Medicine, Department of Industrial Hygiene, Budapest, October 1, 1957.

Zusammenfassung

Bei der Behandlung von Erythrozyten mit Kaliumchlorat sinkt mit der Behandlungsdauer die Fähigkeit zur Bildung von Heinzkörperchen. Dies weist darauf hin, dass die Katalase ebenso sehr Vorbedingung der Heinzkörperchenbildung ist wie Katalase-Inhibitor und Peroxid.

⁶ L. MAGOS, in this issue.

⁷ Planches d'Hématologie, Sandoz (Basel 1950).

Catalase Inhibition by Potassium Chlorate in Red Cells

Catalase inhibition by potassium chlorate is irreversible¹. On this basis it is evident that the catalase activity of red cells after washing with physiological saline, remains as low as at the end of the potassium chlorate treatment.

¹ S. BRENNER and A. C. ALLISON, *Exper.* 9, 381 (1953).

² L. MAGOS, *Exper.* 12, 264 (1956).

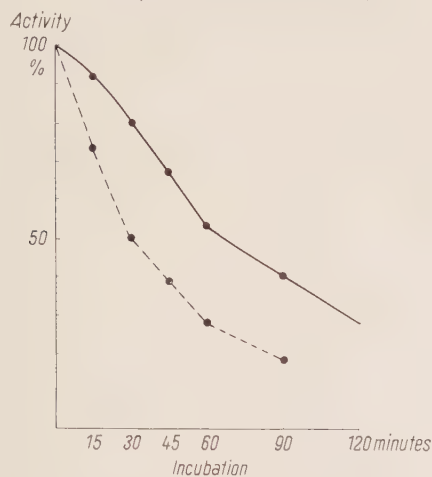
³ D. KEILIN and E. F. HARTREE, *Proc. roy. Soc. [B]* 119, 141 (1936).

⁴ L. MAGOS, *A. M. A. Arch. Industr. Health.* 15, 148 (1957).

⁵ H. BLASCHKO, *Biochem. J.* 29, 2303 (1935).

¹ H. BLASCHKO, *Biochem. J.* 29, 2303 (1935).

In the present study, 0.5 ml washed human red cells were incubated at 37.0°C with 0.2 ml of 1.9% potassium chlorate and 0.8 ml of *M*/15 phosphate buffer of different pH (6.2, 7.0 and 7.8). At different times, red cells were



Catalase activity of potassium chlorate poisoned red cells (— pH 7.0 or 7.8, - - - pH 6.2).

washed with physiological saline 3 times and their catalase activity was estimated by the method of RICHARDSON *et al.*². At the end of the incubation, apart from a light haemolysis at pH 7.0 and 7.8, or an increased haemolysis at pH 6.2, there were no signs of erythrocyte destruction either in the form of Heinz bodies or in other microscopical forms. The data presented in the Figure indicate that the pH influences the decrease of catalase activity caused by potassium chlorate.

In addition, information was gained about the possibilities of obtaining red cells with different catalase content.

L. MAGOS

State Institute of Occupational Medicine, Department of Industrial Hygiene, Budapest, October 1, 1957.

Zusammenfassung

Die Geschwindigkeit der Katalaseaktivitätsverminderung bei mit Kaliumchlorat vergifteten Erythrozyten wird vom pH beeinflusst. Die vorgeschlagene Methode ist zur Gewinnung von Erythrozyten niedriger Katalaseaktivität geeignet.

² M. RICHARDSON, J. F. HUDDLESON, and R. BETHEA, Arch. Biochem. Biophys. 42, 114 (1953).

Die regionale Verteilung der Katalase-Aktivität im Schwanz von hungrigen und gefütterten Xenopuslarven¹

Im Anschluss an Untersuchungen über die Kathepsin-Aktivität im Schwanz von Xenopuslarven² erschien es

¹ Ausgeführt mit Unterstützung der Eidgenössischen Kommission zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung aus Arbeitsbeschaffungsmitteln des Bundes. Herrn Prof. F. E. LEHMANN möchte ich für seine wertvollen Ratschläge und sein reges Interesse an dieser Arbeit herzlich danken. Herrn Dr. R. WEBER danke ich für Hilfe bei der Abfassung des Manuskriptes.

² P. K. JENSEN, F. E. LEHMANN und R. WEBER, Helv. physiol. Acta 14, 188 (1956). – E. M. DEUCHAR, R. WEBER und F. E. LEHMANN, Helv. physiol. Acta 15, 212 (1957). – R. WEBER, Exper. 13, 153 (1957); Rev. suisse Zool. 64, 326 (1957). – G. BENZ, Rev. suisse Zool. 64, 337 (1957).

gegeben, weitere intrazelluläre Enzyme an diesem Objekt zu untersuchen, besonders im Hinblick auf ihre mögliche Beeinflussbarkeit durch histostatische Substanzen (siehe ³). Die Tatsache, dass die Katalase-Aktivität im neoplastischen Gewebe sehr stark erniedrigt ist⁴, lässt vermuten, dass verschiedene physiologische Zustände der Gewebe durch unterschiedliche Katalase-Aktivität gekennzeichnet sind. Vor einiger Zeit ist von FEINSTEIN⁵ eine neue titrimetrische Methode zur Katalasebestimmung mit Natriumperborat als Substrat beschrieben worden, die es ermöglicht, rasch und gut reproduzierbar Serienbestimmungen durchzuführen⁶. Wie die vorliegenden Versuche zeigen, lässt sich diese Methode in Mikroansätzen für Bestimmungen an kleinsten Gewebemengen anwenden. Um einen ersten Hinweis auf die physiologische Bedeutung dieses Enzyms im Xenopuschwanz zu gewinnen, wurde die regionale Verteilung der Katalase-Aktivität im Schwanz von hungrigen und gefütterten Xenopuslarven bestimmt.

Methode. 35 Tage alte Xenopuslarven von 28 bis 31 mm Totallänge wurden in destilliertem Wasser bei 18° im Thermostaten gehalten (je 4 Tiere in 150 ml). Die eine Hälfte der Tiere erhielt jeden Tag reichlich Futter, die andere hungerte vom Beginn des Versuchs an (Tag 0). An den Messtagen wurden je 4 «Hunger»- und «Futter»-Tiere narkotisiert (in MS 222 Sandoz 1:7000) und die ganzen Schwänze auf der Höhe des Afters amputiert. Diese wurden nach Ausblutung (Ausschaltung der Erythrozyten-Katalase) von der Schwanzspitze aus in 3 Stücke geteilt: Schwanzspitze *S* (8 mm), Mittelstück *M* (6 mm), Schwanzbasis *B* (Rest). Die einander entsprechenden Stücke wurden auf Filtrierpapier äusserlich getrocknet, zusammen gewogen (= Frischgewicht) und im *m*/15-Phosphatpuffer pH 7,0 bei 0° homogenisiert. Die Konzentration der Homogenate variierte von 1:20 bis 1:120. Die Bestimmung der Katalase erfolgte nach der Methode von FEINSTEIN⁵ mit folgenden Ansätzen: 92 mm³ 1,5% NaBO₃, 21 mm³ *m*/15 Phosphatpuffer, 21 mm³ Homogenat, 130 mm³ 2-*n* H₂SO₄ zum Unterbrechen. pH der Reaktion 7,0, 5 min Inkubation bei 37°. Rücktitration des unverbrauchten Perborates mit 0,01-*n* KMnO₄. Die Katalase-Aktivität wird in mÄq verbrauchtes Perborat pro mg Frischgewicht angegeben.

Ergebnisse. Die Figuren *a* und *b* zeigen den Verlauf der Aktivitätskurven. Auffallend ist zunächst der starke Aktivitätsgradient für Katalase innerhalb des Schwanzes. Ein analoger Gradient ist von BENZ für das Kathepsin festgestellt worden⁷. Auch für die Katalase ist die Schwanzspitze der Ort der grössten (potentiellen) Enzymaktivität. Dies könnte wohl mit der grösseren physiologischen Aktivität der Spitze (undulierende Bewegung) und der im Verhältnis zur Schwanzbasis grösseren Epithelfläche in Zusammenhang stehen. Bei den «Futter»-Tieren (Fig. *a*) zeigt sich im Verlauf des Versuchs ein starkes Anwachsen der Aktivität in der Spitze und im Mittelstück, während sie in der Basis unverändert bleibt. Gegen Ende des Versuchs (vom 18. Tag an) scheint ein Maximalwert erreicht worden zu sein. Zu diesem Zeitpunkt (im Alter von 62 Tagen am 27. Versuchstag) standen die Tiere kurz vor Beginn der Metamorphose. Bei den «Hunger»-Tieren (Fig. *b*) fällt da-

³ P. K. JENSEN, F. E. LEHMANN und R. WEBER, Helv. physiol. Acta 14, 188 (1956).

⁴ J. P. GREENSTEIN, Biochemistry of Cancer (Academic Press Inc., New York 1954).

⁵ R. N. FEINSTEIN, J. biol. Chem. 180, 1197 (1949).

⁶ Ich möchte Herrn Prof. H. AEBI für den Hinweis auf diese Methode bestens danken. Siehe hiezu: H. AEBI, E. FREI, R. KNAB und P. SIEGENTHALER, Helv. physiol. Acta 15, 150 (1957).

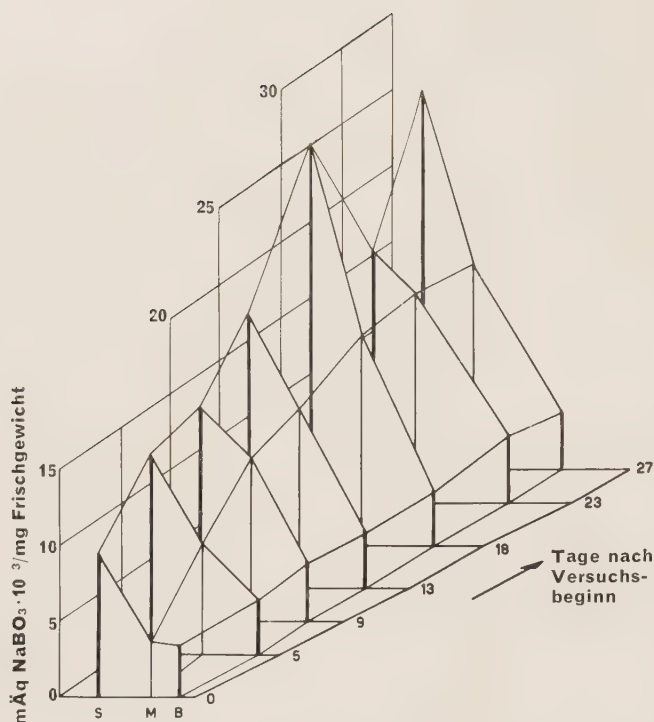


Fig. a: Katalase-Aktivität Futtertiere

Katalase-Aktivität in $\text{mÄq } 10^{-3}$ verbrauchtes NaBO_3 pro mg Frischgewicht. X-Achse = Schwanzlänge: Die Spitze des Schwanzes ist im 0-Punkt, die Länge des Striches drückt an jedem angegebenen Tag die gemessene Schwanzlänge aus. Die Aktivitäten der 3 Abschnitte S (Spitze), M (Mitte) und B (Basis) sind jeweils im Mittelpunkt des betreffenden Abschnittes aufgetragen. Die Werte für den Tag 0 (= Versuchsbeginn) sind in beiden Figuren die gleichen.

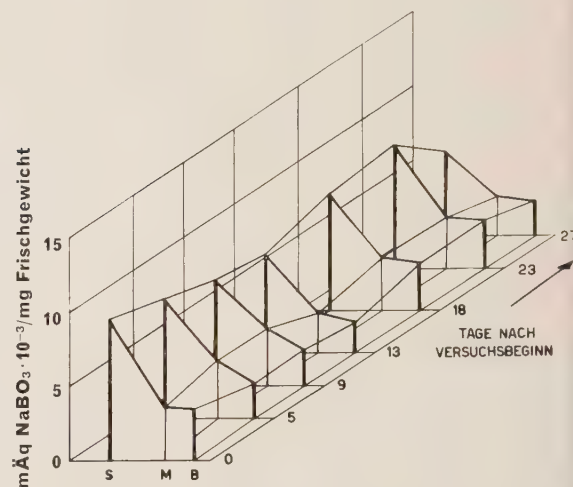


Fig. b: Katalase-Aktivität Hungertiere

gegen mit dem Stillstand des Wachstums auch ein solcher der Katalase-Aktivität auf dem Niveau des Zustandes zu Versuchsbeginn zusammen. Der Aktivitätsabfall vom 23. bis 27. Hungertag deutet wahrscheinlich auf einen reduzierten Stoffwechsel hin, bedingt durch die Erschöpfung der körpereigenen Reservestoffe. Dafür spricht die Beobachtung, dass die Larven selten mehr als 30 Hungertage überleben.

Ein Vergleich dieser Befunde mit den Ergebnissen von BENZ am Kathepsin⁷ zeigt, dass die beiden Enzyme anscheinend verschieden auf die zwei physiologischen Zustände reagieren (es ist hierbei zu beachten, dass bei BENZ die Enzymaktivität auf Stickstoff bezogen ist). Bei den «Futter»-Tieren bleibt die Kathepsin-Aktivität in allen Schwanzabschnitten im wesentlichen unverändert tief, während die Katalase-Aktivität in der Spitze und im Mittelstück stark zunimmt. Bei den «Hunger»-Tieren steigt die Kathepsin-Aktivität, besonders in der Schwanzbasis, während hier die Katalase in allen Schwanzabschnitten nur geringe Schwankungen zeigt.

Während dem Kathepsin nach den Untersuchungen von WEBER und BENZ eine vorwiegend proteolytische Funktion zugeschrieben werden kann⁸, muss die Frage nach der spezifischen Bedeutung des Katalasesystems für morphogenetische Prozesse noch offen gelassen werden. Die vorliegenden Befunde lassen erkennen, dass physiologisch so verschiedene Zustände wie normales Wachstum und durch Hunger bedingter Wachstumsstillstand mit charakteristischen Unterschieden in der

Katalase-Aktivität korreliert werden können⁹. Infolgedessen ist für die Katalase eine wesentliche Funktion im Stoffwechsel des wachsenden Schwanzgewebes von Xenopuslarven anzunehmen.

H. P. VON HAHN

Zoologisches Institut der Universität Bern, 17. Oktober 1957.

Summary

The regional distribution of catalase activity has been determined in three sections of the tails of fed and starving *Xenopus* larvae during a period of 27 days. The method of FEINSTEIN, using perborate as substrate, was adapted to work on a microscale. Catalase activity was highest in the tip and decreased towards the base of the tail. During the experiment, catalase activity increased markedly in the tips of the tails of the fed larvae, whereas there were only slight changes of activity in the tails of the starving larvae.

⁹ L. L. MILLER, J. biol. Chem. 172, 113 (1948), konnte zeigen, dass bei hungrigen Ratten die Aktivität der Leberkatalase erniedrigt ist.

Vernalisation de *Linum austriacum* L. par ablation des rameaux latéraux

Les indications que nous avons obtenues sur les besoins thermopériodiques des lins sont peu nombreuses. PLONKA¹ signale pour *L. usitatissimum* L. l'existence de variétés d'hiver et de printemps. Nos propres essais révèlent que le type annuel de *L. angustifolium* L., que nous avons utilisé, n'a pas besoin de vernalisation, tandis que *L. austriacum* L., espèce vivace, en dépend pour sa floraison.

L. austriacum L. (= *L. collinum* Guss) est une des trois sous-espèces du *L. alpinum* Jacq. La race que nous avons

⁷ G. BENZ, Rev. suisse Zool. 64, 337 (1957).

⁸ R. WEBER, Exper. 13, 153 (1957); Rev. suisse Zool. 64, 326 (1957). G. BENZ, Rev. suisse Zool. 64, 337 (1957).

¹ F. PLONKA, Les variétés de lin, Institut national de la recherche agronomique à Paris (Ed. René P. Colas, Paris 1956).

étudiée, a été cultivée de nombreuses années au Jardin botanique de Genève, puis contrôlée par nous au cours de deux ans sans présenter d'instabilité génétique. Mentionnons cependant chez cette sous-espèce l'existence d'une hétéromorphie florale (fleurs brévi- et fleurs longistylées), qui, jusqu'à présent, ne semble pas jouer de rôle dans le problème qui nous occupe.

Semé à fin avril ou début mai, *L. austriacum* L. lève (pots en plein air) en 10 à 14 jours. Une tige principale, porteuse de feuilles, apparemment opposées à ce stade de croissance, se développe au-dessus des cotylédons pendant 15 jours. A ce moment apparaît une paire de bourgeons au niveau des plus anciennes feuilles, un peu au-dessus des cotylédons; ces bourgeons développent, sans délai, des rameaux latéraux. Un peu plus tard surgit, presque au même niveau, une seconde paire de rameaux latéraux. Ceux-ci, alors au nombre de 4, éventuellement de 5 à 6, constituent une sorte de verticille qui se complètera ultérieurement par le développement d'autres rameaux latéraux de moindre importance et formés à peu près au même niveau que les premiers.

Le traitement imposé, sorte de mutilation, consiste à couper les rameaux latéraux dès qu'ils apparaissent. La première ablation se fait quand la plante atteint au maximum 4 cm de hauteur, la seconde environ 12 jours plus tard.

Le délai, nécessité pour l'apparition d'une nouvelle ébauche de rameau latéral, tombe ensuite de 4 à 5 jours. Les mutilations sont répétées jusqu'à la fin de la saison.

Ce traitement a des effets divers: le rameau central, demeuré seul, s'allonge et s'épaissit par comparaison à celui d'une plante témoin. La surface des feuilles est visiblement augmentée. Tout se passe, comme si le végétal compensait les surfaces transpirantes-photosynthétisantes éliminées par le traitement. L'importance des racines n'est toutefois pas modifiée (voir photographie n° 1: à gauche, plante traitée (fleurs); à droite, plante témoin).

L'effet le plus curieux de l'intervention concerne la floraison. Les plantes témoins, semées le 4 mai 1956, puis le 29 avril 1957, ne fleurissent pas au cours de l'année. Les plantes traitées, semées aux mêmes dates, fleuriront respectivement au bout de 120 jours et 135 jours. Le traitement a donc pour résultat de déclancher la floraison. Les expériences suivantes furent ensuite faites pour expliquer la cause de l'échec de floraison chez les plantes témoins:

Conditions	1	2	3	4	5	6
1 ^{re} vernalisation naturelle	—	—	—	—	—	—
Vernalisation artificielle	—	—	+	+	—	—
Traitement	—	—	—	—	+	+
Floraison	—	—	+	+	+	+
2 ^e vernalisation naturelle	+	—	+	—	+	—
Floraison	+	(—)	(+)	(—)	+	(—)

Vernalisation naturelle, c'est-à-dire due au froid de l'hiver. Vernalisation artificielle, c'est-à-dire opérée entre 3° et 4° dans des frigorifiques. 2^e vernalisation naturelle, c'est-à-dire due au froid du second hiver. Les signes + signifient la présence contrôlée de l'événement, les signes — son absence contrôlée. Les () signifient les résultats escomptés pour 1958!

La plante placée dans la condition 1 ne fleurit pas sans vernalisation au cours de la première année. Une vernalisation artificielle (condition 3) détermine une floraison au cours de la première année. Le froid de l'hiver (seconde partie de la condition 1) suffit pour faire fleurir une plante demeurée sans fleurs au cours de sa première année de croissance. Ainsi est établi pour *L. austriacum* L. son besoin absolu de vernalisation, document nouveau à verser aux archives des informations sur la thermophase.



Fig. 1.

La conclusion essentielle et inédite de ces expériences est la suivante: un traitement de mutilation remplace chez *L. austriacum* L., la vernalisation.



Fig. 2.

Des expériences, dont les protocoles ne sont pas résumés ici, montrent que 33 jours de vernalisation ne suffisent pas: 1 plante sur 8 fleurit! Après 60 jours de basse température, 7 plantes sur 8 produisent des fleurs. La vernalisation artificielle provoque chez les lins des modifications organographiques qui nous paraissent d'une grande importance pour la théorie de la floraison. Les plantes traitées par le froid ne développent qu'une partie de leurs rameaux latéraux et prennent de ce fait un port plus ou moins monocaule. Les sujets qui ont subi une vernalisation insuffisante (33 jours) occu-

pent, à cet égard, une position intermédiaire entre les témoins et les sujets complètement vernalisés (voir fig. 2; à gauche: vernalisé 60 jours (fleurs); milieu: vernalisé 33 jours; à droite: témoin). Ces constatations ont été faites sur des plantes appartenant aux espèces *L. austriacum* L. et *L. angustifolium* L. Un rapprochement s'impose entre ces observations et le fait qu'une intervention (traitement) conduisant à la monocaulie déclanche corrélativement la floraison. Ajoutons enfin, que des plantes témoins devenues monocaulées par destruction des bourgeons de rameaux latéraux due à la microfaune du sol, ont fleuri sans vernalisation au cours de leur première année.

Ces faits nous engagent à penser qu'une concentration des ressources tropho-hormonales dans un appareil aérien modifié par la mutilation, est en étroite liaison avec la formation des ébauches florales et l'épanouissement de ces dernières. La thermophase et la mutilation sont aptes à produire cette réduction de la masse de l'appareil aérien. Le rôle du froid ne serait-il pas, *pro parte*, de limiter l'expansion d'appareils végétatifs aériens dont l'importance tenderait à faire tomber au-dessous du seuil nécessaire à la floraison, la concentration des ressources tropho-hormonales requise pour cette floraison? On passerait ainsi d'une théorie postulant l'absence ou la présence à une théorie plus biologique, fondée sur des concentrations infraoptimales et optimales de substances florigènes.

K. D. DANG et F. CHODAT

Station de Botanique expérimentale, Université de Genève, le 11 octobre 1957.

Summary

According to these experiments, it appears that *Linum austriacum* L. needs vernalisation to bloom. The treatment at low temperature (vernalisation) may be replaced in the course of the first year by a process of mutilation, that is to say, the ablation of all lateral shoots as soon as they appear. The notion of the concentration of tropho-hormonal reserves in the aerial portion of the plant has been considered as a partial explanation of the phenomenon.

Unterschiede der Stabilität von Lipopolysacchariden aus *Proteus vulgaris* OX 19 in Serum und Plasma

VON STAUCH¹ und von WESTPHAL² wurde beschrieben, dass Lipopolysaccharide von gramnegativen Bakterien in Serum unter Wirkungsverlust verändert werden. Der Befund scheint bis zu einem gewissen Grade der langdauernden Wirkung von Polysacchariden im tierischen Organismus³ und an Leukozyten in Kultur zu widersprechen. Besonders bei der leukozytenemigrationsfördernden Wirkung ist es höchst wahrscheinlich, dass die Polysaccharide längere Zeit wirksam im Milieu erhalten bleiben⁴. Es schien bei dieser Sachlage wichtig, zu unter-

suchen, ob der Wirkungsverlust der Polysaccharide in Serum verschiedener Tiere erfolgt und ob zwischen Serum und Plasma Unterschiede vorhanden sind.

Methode. Die Aktivität des Lipopolysaccharides wurde an der Auswanderung von Leukozyten *in vitro* getestet⁵. Den Kulturen wurde im Falle 1 und 2 die zu untersuchende Lösung überschichtet. Im Falle 3 wurde das Plasma-Polysaccharid-Gemisch unterschichtet.

Material. Zu allen Versuchen wurde ein aus Kulturmedium von *Proteus vulgaris* OX 19 hergestelltes Lipopolysaccharid (PPS) verwendet.

Das Kaninchenserum wurde in der üblichen Weise gewonnen: Gerinnenlassen von Vollblut in silikonisierten Röhrchen bei Zimmertemperatur. Das Hühnerserum wurde durch Zentrifugieren von Vollblut, ohne Zusatz von Antikoagulantien in der Kälte derart gewonnen, dass das von Leukozyten und Erythrozyten befreite Plasma in silikonisierten Röhrchen, mit oder ohne Zusatz von Embryonalextrakt zur Gerinnung gebracht wurde. Das Gerinnsel, das spontan kein Serum austreibt, wurde zur Gewinnung des Serums durch eine Rekordspritze gedrückt.

Das mit Plasma bebrütete PPS wurde unmittelbar vor der Testierung ebenfalls durch eine Rekordspritze gedrückt und in der gleichen Weise wie die bebrüteten Serum-PPS-Gemische verdünnt den Leukozytenkulturen überschichtet.

Ergebnisse

1. Wird PPS in einer Verdünnung von 10^{-7} bis 10^{-9} mit Serum von Kaninchen und Huhn während 2–24 h stehengelassen, so wird bei 4° und 18°C die Wirksamkeit des PPS kaum beeinträchtigt. Bei 37°C erfolgt in den ersten 4 h kein Wirksamkeitsverlust, bei längerer Inkubation nimmt die Aktivität des PPS langsam ab und ist nach 24 h nicht mehr nachzuweisen.

2. Wird in der gleichen Versuchsanordnung Plasma anstelle von Serum verwendet, so erleidet nach 24 h bei 37°C das PPS im Plasma nur leichte Wirksamkeitseinbußen und ist noch hochaktiv. Die im Leukozytennährmedium enthaltene Hühnerembryonalextrakt-Verdünnung inaktiviert, ebenso wie Tyrode PPS bei 37°C allein kaum.

3. Wird das PPS in der Testschale im koagulierten Plasmanährboden ohne Leukozyten verschieden lang (bis 24 h) inkubiert und dann mit einem zweiten normalen Medium mit Leukozyten überschichtet, so bleibt die Wirksamkeit des PPS erhalten.

Diskussion

Aus den Versuchen geht hervor, dass ein Lipopolysaccharid aus *Proteus vulgaris* OX 19 Kulturmedium mit leukozytenemigrationsfördernder Wirkung bei 37°C durch Serum von Huhn und Kaninchen innerhalb von 24 h inaktiviert wird. In Plasma von Huhn in geronnenem Zustand und Plasmaembryonalextraktgemisch bleibt die Aktivität des PPS erhalten. Eine Erklärung des unterschiedlichen Verhaltens der PPS in Serum und Plasma kann in folgender Weise versucht werden:

PPS-Inaktivierung im Serum kann dadurch zustandekommen, dass bei der Herstellung und Verdünnung Stoffe frei werden, die die PPS an Serumbestandteile binden. Elektrophoreseversuche weisen darauf hin, dass die elektrophoretische Wanderung von PPS zusammen mit β -Globulin in der Weise beeinflusst wird, dass eine

¹ J. E. STAUCH und A. G. JOHNSON, Fed. Proc. 16, 434 (1957).

² O. WESTPHAL, Mucopolysaccharid-Symposium (CIBA Foundation, London 1957).

³ R. MEIER und L. NEIPP, Schweiz. med. Wschr. 86, 249 (1956). – F. KRADOLFER, R. WYLER und R. MEIER, Exper. 8, 187 (1957). – U. BUTTER und G. THOMAS, Münch. med. Wschr. 98, 1240 (1956).

⁴ B. SCHÄR, F. W. KAHNT und G. HUBER, Helv. physiol. pharmacol. Acta 15, 116 (1957).

⁵ R. MEIER, P. A. DESAULLES und B. SCHÄR, Arch. exp. Path. Pharmacol. 224, 104 (1955).

Komplexbildung angenommen werden muss, während dem γ -Globulin ein solcher Effekt nicht zukommt. Die Inaktivierung kann möglicherweise auch durch Einwirkung von Fermentsystemen, die freigesetzt oder enthemmt werden, zustandekommen. Ähnliches ist für «pain-producing substances» und Bradykinin-artige Stoffe bekannt⁶.

Die fehlende oder viel langsamere Inaktivierung in Plasma kann aus der Kombination von PPS mit bei der Gerinnung wichtigen Makromolekeln resultieren. Diese Deutung der Versuchsergebnisse wird unterstützt durch die Befunde von UNGAR, WESTPHAL und unsere eigenen, dass PPS die Fibrinolyse fördert² und durch diejenigen von PILLEMER, LANDY und SHEAR⁷, welche nach Verabreichung von Polysacchariden das Auftreten von hochmolekularen Substanzen im Blut beschreiben. Die unterschiedliche Zerstörung in Serum und Plasma scheint für das biologische Verhalten der PPS von Bedeutung.

BERTHA SCHÄR und F. W. KAHNT

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel, 18. November 1957.

Summary

Although bacterial polysaccharides are broken down in the serum of various animals, polysaccharides in the plasma of the same animal are largely stable. The importance of this finding is discussed with respect to the biological behaviour of polysaccharides.

⁶ D. AMSTRONG, J. B. JEPSON, C. A. KEELE und J. W. STEWART, J. Physiol. 135, 350 (1957). – M. SCHACHTER, Brit. J. Pharmacol. 11, 111 (1956).
⁷ L. PILLEMER, M. LANDY und M. J. SHEAR, J. exp. Med. 106, 99 (1957).

On the Carbohydrate Utilization by the Larvae of *Trogoderma granarium* Everts. (Dermestidae: Coleoptera)

Trogoderma granarium is one of the major pests affecting stored plant products in India and elsewhere.

Its larvae are known for their hardy nature and can withstand adverse conditions of insufficient food supply, long periods of starvation, high temperatures and low humidities. These are also resistant to normal insecticide concentrations which are fatal to almost all the insect species living in the similar environment. The larvae feed on the endosperm leaving the testa intact. Though polyphagous in habit, they prefer food rich in carbohydrates. Some observations¹ on its nutrition made earlier, suggested that it can make use of large varieties of food grains including those that are not nutritious to many of the stored-product beetles. In an attempt to study nutritive values of several carbohydrates—simple and complex—the larvae were reared on different artificial food media, each providing a separate source of carbohydrate. The results are briefly reported in the present communication.

The basic diet consisted of casein, cholesterol, vitamins of B complex, a salt mixture and one of the 22 compounds as a source of carbohydrate. The proportions in which various ingredients were mixed were the same as reported elsewhere². The results are summarized in the Table where the degree of utilization is indicated by the corresponding numbers of + signs.

Of the monosaccharides tested, the pentoses—arabinose, xylose and rhamnose—were not utilized while the hexoses proved to be better nutritionally. Glucose was very suitable but fructose behaved with irregular efficiency; galactose and mannose were poor, while sorbose remained entirely unutilized. The disaccharides were still better.

Maltose and sucrose gave the best growth. An adverse effect on larval development was observed when diets contained melibiose, cellobiose or lactose. Inclusion of trehalose rendered the diet completely deficient. Raffinose and melezitose were of medium nutritive value. Polysaccharides, like maize, potato and soluble starches, served as fairly good sources of carbohydrate. Sugar alcohols—mannitol, sorbitol and dulcitol—proved to be of no dietary value.

¹ K. R. P. SINGH und N. C. PANT, J. zool. Soc. India 7, 155 (1955).
² N. C. PANT, Ind. J. Ent. 18, 259 (1956).

Growth of *Trogoderma* larvae on various carbohydrates. ++++ indicates a growth comparable to optimum growth in control diet. Decrease in plus signs indicates corresponding slower growth. Absence of growth indicated by —.

Source of carbohydrate	Utilization	Source of carbohydrate	Utilization
<i>Pentoses</i>		Melibiose	+++
Arabinose	—	Cellobiose	+++
Xylose	±	<i>Trisaccharides</i>	
Rhamnose	±	Raffinose	+++
<i>Hexoses</i>		Melezitose	+++
Glucose	+++	<i>Polysaccharides</i>	
Fructose	++?	Soluble starch	+++
Galactose	++	Maize starch	+++
Mannose	++	Potato starch	++
Sorbose	—	<i>Sugar Alcohols</i>	
<i>Disaccharides</i>		Mannitol	±
Sucrose	++++	Sorbitol	—
Maltose	++++	Dulcitol	—
Lactose	++±	<i>Control</i>	
Trehalose	+	Wheat flour + 5% yeast	++++

The capacity of carbohydrate utilization by *Trogoderma* can be compared with that of other insects. Larvae of *Tenebrio*³, unlike *Trogoderma*, grew well on mannitol or trehalose but not on mannose and galactose. *Stegobium*⁴ failed to utilize mannose, galactose, xylose, arabinose, cellobiose or -methyl glucoside, and similarly for *Oryzaephilus*⁴ xylose, dulcitol, inulin or sorbose were of no food value. However, insects like adult blowfly, *Calliphora erythrocephala*⁵, thrived very well on xylose, ribose or trehalose.

A full report of these observations will appear elsewhere.

Thanks are due to Prof. M. L. BHATIA, Head of the Department of Zoology, University of Delhi, for his interest in work and for providing research facilities. The investigations were partly supported by a Government of India grant made by the Ministry of Education to one of us (N.C.P.).

N. C. PANT* and N. K. UBEROI

Department of Zoology, University of Delhi (India),
October 28, 1957.

Zusammenfassung

Trogoderma-Larven reagieren auf verschiedenartige Kohlehydrate verschieden. Disaccharide erweisen sich als die besten, Trisaccharide, Stärke und Hexosen als ziemlich gute, Pentosen und Zuckeralkohole als sehr schlechte Kohlehydratquellen.

³ G. FRAENKEL, J. cell. comp. Physiol. 45, 393 (1955).

⁴ A. LEMONDE and R. BERNARD, Nat. canad. 80, 125 (1953).

⁵ G. FRAENKEL, J. exp. Biol. 17, 18 (1940).

* Present address: Division of Entomology, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi (India).

An *in vitro* Action of Deoxycorticosterone (DOC) on Red Cell Electrolytes

A direct action of adrenal steroids on red cell electrolytes has been demonstrated by CONWAY¹ and O'BRIEN¹, STREETEN and SOLOMON², SCHATZMANN³, and by SHERWOOD JONES⁴. The physiological significance of the response has however not been elucidated.

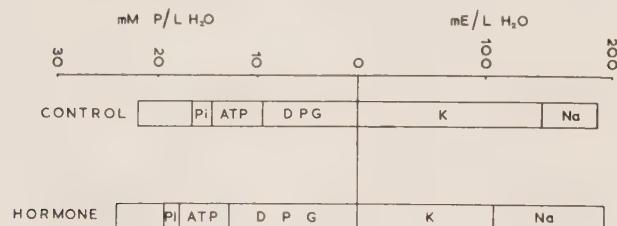


Diagram illustrating a metabolic response of the human red cell to DOC glucoside *in vitro*. Glucose 0.01 M, pH 7.40, temperature 38°C.

Further experiments have been conducted on suspensions of fresh human red cells in a bicarbonate buffer (KREBS and HENSELEIT⁵) having the following composi-

¹ E. J. CONWAY and L. T. F. O'BRIEN (1954). Quoted by CONWAY, Mem. Soc. Endocrinol. 5, 18 (1956).

² D. H. P. STREETEN and A. K. SOLOMON, J. gen. Physiol. 37, 643 (1954).

³ H. J. SCHATZMANN, Exper. 10, 189 (1954).

⁴ E. SHERWOOD JONES, Nature 176, 269 (1955).

⁵ H. A. KREBS and K. HENSELEIT, Hoppe-Seylers Z. 210, 33 (1932).

tion: Na 144.5, K 4.25, Cl 123.0, HCO₃ 25.0 meq/l, and P 1.5 mM/l. The buffer was in equilibrium with 5% CO₂ in O₂ and the suspensions were incubated at 38°. The ratio gas phase: buffer volume: red cell volume was approximately 200:20:1. Under these conditions the extracellular fluid remained of constant composition despite large changes in the red cell fluids. The substrates used were glucose (0.01 M) or adenosine (0.005 M). Deoxycorticosterone glucoside was added to the suspensions to give concentrations of 0.1 to 1.0 mg/ml. Over periods of 16 to 19 h there were demonstrable effects on the red cell electrolytes, but large net changes were observed only at the highest concentration. Employing a concentration of 1.0 mg/ml the following changes were noted in the treated erythrocytes: (1) the red cells had an increased mechanical fragility. (2) There was a fall in cell K of 38.0 meq/l H₂O and the erythrocyte gained 42.4 meq/l H₂O of Na (Figure). The erythrocyte water content increased by 10.5 g/l but no statistically significant change in chloride occurred. These results were similar with either glucose or adenosine as substrate. (3) DOC induced in the erythrocyte a mean increase of 3.8 mM P/l H₂O in the total acid-soluble phosphate and this was largely due to a net change of 3.4 mM P/l H₂O in 2:3-diphosphoglycerate (Figure). The effects of DOC on adenosine triphosphate and inorganic phosphate were not statistically significant. (4) The hormone treated cells, when centrifuged, did not deoxygenate as did the controls. Since oxygen uptake of non-nucleated red cells is probably due to the hexosemonophosphate shunt rather than to pyruvate oxidation, the methylene blue (MB) oxygen uptake of the abnormal cells was studied. (5) It was found that, in the presence of glucose (0.01 M), the oxygen uptake induced by MB (0.0033 g/100 ml) was inhibited 50% when the DOC was still present in the suspending medium, and the inhibition was approximately 30% when the DOC treated cells were washed and resuspended in fresh buffer.

It is concluded from the above evidence that high concentrations of DOC glucoside can act directly on red cell electrolytes and metabolism but it cannot be deduced that this action is a specific hormonal response and there is evidence that this is unlikely. Thus, the *in vitro* response is at variance with the erythrocytic changes induced *in vivo* by the administration of large doses of DOC acetate to rats fed on a low K diet. In these experiments the red cell gained K, Na and phosphate in response to a hypochloreaemic alkalosis in the plasma whereas skeletal muscle showed the anticipated loss of K and gain in Na⁶.

The DOC glucoside was kindly donated by CIBA Laboratories.

E. SHERWOOD JONES

Department of Medicine, University of Liverpool,
September 20, 1957.

Résumé

Dans les suspensions d'érythrocytes humains incubées avec du glucose et du déoxycorticostérone glucoside, K diminue, tandis que Na, H₂O et P augmentent. Ces globules rouges, traités avec des hormones, absorbent notablement moins d'oxygène de bleu de méthyle que les érythrocytes de contrôle.

⁶ E. SHERWOOD JONES and I. CHESTER JONES, Unpublished (1957).

Einfluss von Isopropyl-isonikotinsäurehydrazid auf den Katecholamingehalt des Myokards

Vor kurzem wurde gefunden, dass Isopropyl-isonikotinsäurehydrazid (Iproniazid, «Marsilid»*) günstige Wirkung bei Angina pectoris ausübt. Der therapeutische Effekt tritt etwa 3–10 Tage nach täglicher Zufuhr von 3×50 mg des Medikamentes ein¹. Der Wirkungsmechanismus von Iproniazid besteht möglicherweise in Hemmung der Monoaminoxidase. Nach bisherigen Untersuchungen scheint Iproniazid *in vivo* dieses Ferment vor allem im Gehirn zu hemmen. Es kommt dabei zu Anstieg von endogenen Katecholaminen und 5-Hydroxytryptamin (Serotonin). In anderen Organen (zum Beispiel im Darm) hat Iproniazid geringere Wirkung auf den Monoaminstoffwechsel².

Über den Einfluss von Iproniazid auf den Katecholamingehalt des Herzens bestehen bisher keine systematischen Untersuchungen. Deshalb wurde diese Frage in der vorliegenden Arbeit bei verschiedenen Tierspezies geprüft. Dabei erfolgte auch Vergleich der Wirkung von Iproniazid und Isonikotinsäurehydrazid (Isoniazid, «Rimifon»³). Die letztere Substanz ist chemisch dem Iproniazid nahe verwandt, hemmt aber Monoaminoxidase *in vitro* in viel geringerem Masse³. Die Bestimmung der Katecholamine im Gesamtherzen wurde spektrophotofluorimetrisch nach Extraktion und Oxydation mit Jod ausgeführt⁴.

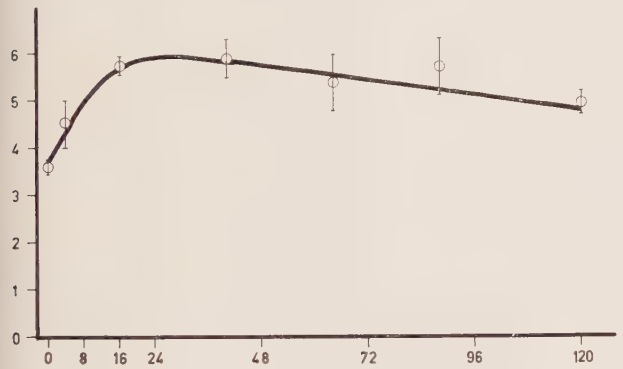


Abb. 1. Einfluss von Iproniazid auf den Katecholamingehalt des Herzmuskels bei 250–350 g schweren Meerschweinchen.

Ordinate: Katecholaminkonzentration im Herzmuskel in g/g.
Abszisse: Zeit nach intraperitonealer Injektion von 100 mg/kg Iproniazid.

Die Punkte bedeuten die Mittelwerte aus je 4–32 Bestimmungen.
Vertikale Linien: mittlere quadratische Abweichung.

Nach einmaliger Injektion von 100 mg/kg Iproniazid ergab sich bei Meerschweinchen ein im Vergleich zur Norm signifikant erhöhter Katecholamingehalt des Herzens ($p < 0,01$), der vor allem Noradrenalin betraf (Abb. 1). Bei Mäusen bewirkten 2×100 mg/kg Ipronia-

zid, im Abstand von 8 h intraperitoneal injiziert, ebenfalls signifikante Zunahme der Katecholamine im Myokard. Der Anstieg war jedoch geringer als bei Meerschweinchen (Anstieg um $30 \pm 7\%$, $p < 0,01$; Messung 24 h nach der ersten Iproniazid-Injektion). Bei Kaninchen und Ratten kam es nach 100–150 mg/kg Iproniazid lediglich zu einem nicht signifikanten durchschnittlichen Katecholaminanstieg von etwa 15% ($p > 0,05$). Der Katecholamingehalt zeigte bei Meerschweinchen Abhängigkeit von der Iproniazid-Dosis (Abb. 2); er hatte etwa 16 h nach Applikation von 100 mg/kg Iproniazid das Maximum erreicht und war 120 h nach Injektion dieser Dosis immer noch signifikant erhöht ($p < 0,01$) (Abb. 1). 30 mg/kg Isoniazid bewirkten keinen, 100 mg/kg Isoniazid nur schwach signifikanten Katecholaminanstieg ($0,05 > p > 0,02$) (Abb. 2).

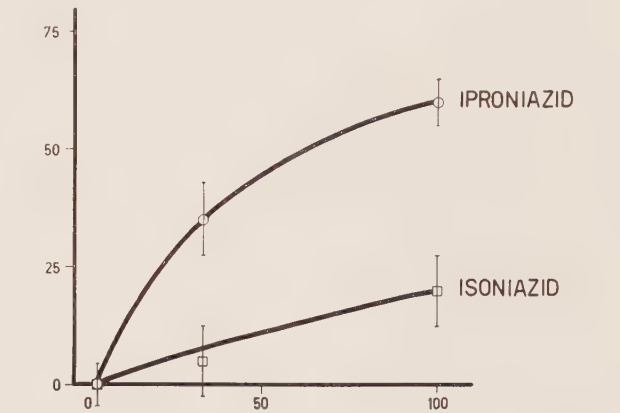


Abb. 2. Einfluss von Iproniazid und Isoniazid auf den Katecholamingehalt des Herzens von Meerschweinchen.

Ordinate: Zunahme des Katecholamingehaltes im Herzmuskel in % des Normalwertes 16 h nach intraperitonealer Injektion der Drogen.

Abszisse: Dosis von Iproniazid, bzw. Isoniazid in mg/kg.
Die Punkte bedeuten Mittelwerte aus je 4–32 Bestimmungen.
Vertikale Linien: mittlere quadratische Abweichung.

Die beschriebenen Versuche zeigen, dass Iproniazid *in vivo* bei Meerschweinchen den Katecholaminstoffwechsel des Herzens in ähnlicher Weise beeinflusst wie denjenigen des Gehirns. Eine elective Wirkung von Iproniazid auf das Gehirn ist also hier nicht vorhanden. Dieser Effekt beruht wahrscheinlich auf Hemmung der Monoaminoxidase, was zu verzögertem Abbau und Akkumulation der Katecholamine führt. Isoniazid, eine Substanz, die *in vitro* die Monoaminoxidase nur geringgradig hemmt, bewirkt im Vergleich zu Iproniazid lediglich schwachen Anstieg der Katecholamine.

Die günstige Wirkung von Iproniazid bei Angina pectoris hängt möglicherweise mit der Beeinflussung des Katecholaminstoffwechsels im Herzen kausal zusammen. Dafür spricht der Befund, dass mit Isoniazid bei Angina pectoris kein sicherer therapeutischer Effekt erzeugt werden konnte⁵. Ferner würde der protrahierte Effekt von Iproniazid auf den Monoaminstoffwechsel des Herzens die kumulative Wirkung kleiner Iproniazid-Dosen beim Menschen erklären, womit der langsame Wirkungseintritt des Medikamentes bei Angina pectoris wahrscheinlich zusammenhängt.

Die Annahme eines direkten günstigen Effektes der Katecholamine bei Angina pectoris steht allerdings in

* Fabrikmarke.
¹ T. CESARMAN, Arch. Inst. Cardiol. Mexico 27, 563 (1957); Circulation (im Druck).
² S. UDENFRIEND, H. WEISSBACH und D. F. BOGDANSKI, Ann. N. Y. Acad. Sci. 66, 602 (1957). – A. PLETSCHER, Exper. 12, 479 (1956); Helv. physiol. Acta 14, C76 (1956); Schweiz. med. Wschr. 87, 1532 (1957).
³ E. A. ZELLER und J. BARSKY, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 81, 459 (1952). – R. W. SCHAYER, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 84, 60 (1953). – G. VIOLLIER, E. QUIRING und H. STAUB, Helv. chim. Acta 36, 724 (1953).
⁴ P. A. SHORE und J. S. OLIN, J. exp. Path. Pharm. (im Druck).

⁵ T. CESARMAN, persönliche Mitteilung.

Widerspruch mit der Theorie von RAAB⁶. Danach wirken Katecholamine ungünstig auf den Stoffwechsel des Myokards, was bei Entstehung von Angina pectoris eine ursächliche Rolle spielen soll. Sofern diese Hypothese richtig ist, kann man sich auch denken, dass für die schädigende Herzwirkung ein Abbauprodukt der Katecholamine verantwortlich ist, dessen Entstehung infolge Iproniazid-Wirkung gehemmt wird. Ferner bestünde die Möglichkeit, dass Iproniazid die für den Herzstoffwechsel schädliche Freisetzung von gebundenen Katecholaminen hemmt. Durch beide Mechanismen wäre die festgestellte Erhöhung des Katecholamingehaltes erklärt. Die Frage eines eventuellen Zusammenhanges zwischen Erhöhung des Katecholamingehaltes im Herzen und günstiger Wirkung von Iproniazid bei Angina pectoris muss weiter abgeklärt werden.

A. PLETSCHER

Medizinische Forschungsabteilung der F. Hoffmann-La Roche & Co. AG., Basel, 12. November 1957.

Summary

Iproniazid causes a marked prolonged rise in the catecholaminecontent of the heart of guinea pigs. Isoniazid has a much weaker activity in this respect. This effect of iproniazid on the catecholamines of the heart is less marked in other animal species than in guinea pigs.

⁶ Literatur siehe: W. RAAB, Die Medizinische 1953, V; 1957, 1. — *Advances in Cardiology*, Vol. I (S. Karger Verlag, Basel und New York 1956), S. 65.

Erythropoiesis in Nephrectomized Dog

The occurrence of anemia in cases of chronic renal insufficiency is a well-known fact; in these cases, the bone marrow is morphologically normal. In acute renal insufficiency, the situation is quite different. RICHET *et al.*¹ and ourselves observed erythroblastopenia in the marrow although nitrogen retention was similar to that of chronic cases.

In each of the 6 dogs observed up to now, disappearance of bone marrow erythroblasts was noted (see the Table).

Dogs No.	% erythroblasts									
	Before nephrectomy	Days after nephrectomy								
		1 st	2 nd	3 rd	4 th	5 th	6 th	7 th	8 th	9 th
1	43.6						0			
2	39.8						0			
3	20.7	1	0			0			0	
4	35.7						0			0
5	41.6		1	1	0.5		0		0	
6	14.4			1		0	0		0	

In order to elucidate the mechanism of this phenomenon, we studied the erythropoiesis of nephrectomized dogs. These animals were kept alive for 10 to 15 days

¹ G. RICHET, D. ALAGILLE, and E. FOURNIER, *Presse méd.* 62, 50 (1954).

² A. GROLLMAN, L. B. TURNER, and J. A. McLEAN, *Arch. int. Med.* 87, 379 (1951).

by use of peritoneal dialysis. The first nephrectomy was performed 10 to 20 days before the second. After the second nephrectomy, the dogs were dialysed twice or thrice daily, according to the procedure of GROLLMAN *et al.*². Bone marrow was drawn regularly by iliac crest puncture.

The study of incorporation rate of Fe⁵⁹, in erythrocytes confirms the absence of erythropoiesis in bilaterally nephrectomized dogs.

These results suggest that the kidney is at the origin of a highly potent erythropoietic factor. Nevertheless this hypothesis needs confirmation and further work is now being performed on the subject in this laboratory.

J. P. NAETS

Medical Clinic and Laboratory of Experimental Medicine, Brussels, August 1, 1957.

Résumé

On observe souvent chez l'homme anurique de l'érythroblastopénie médullaire alors que dans l'insuffisance rénale chronique la moëlle est normale, bien que la rétention de produits toxiques soit la même dans les deux cas.

Nous avons observé chez le chien néphrectomisé une disparition rapide des érythroblastes de la moëlle osseuse; cet arrêt de l'érythropoïèse a été confirmé par l'étude de l'incorporation du Fe⁵⁹ chez ces animaux.

Nous en déduisons que le rein est probablement la source d'un principe érythropoïétique très actif.

Les variations de Na⁺, Ca⁺⁺, K⁺ et [H⁺] du sang chez l'homme

Sous sa forme traditionnelle, la notion d'homéostasie suppose un milieu intérieur «fixe», selon la terminologie bernardienne, ou des variations «infinitésimales», pour employer un vocabulaire plus récent. Or, la variabilité se mesure et, comme nous l'avons montré dans quelques publications antérieures, en physiologie elle offre toute une gamme, allant de la stabilité relative aux amples oscillations qui distinguent la plupart des caractères biochimiques¹.

Dans cette note nous allons reprendre, sur des données plus nombreuses et avec un traitement plus précis, l'étude des variations du sodium, du calcium et du potassium plasmatiques. Nous compléterons cet exposé par un sondage concernant les ions hydrogène qu'on invoque d'habitude pour illustrer la parfaite constance du milieu intérieur.

Pour le sodium, le calcium et le potassium, les analyses ont été faites sur deux échantillons de sang prélevés avec un intervalle de temps très court sur un groupe d'hommes adultes, puis, avec un intervalle d'une ou deux semaines, sur un deuxième groupe, moins nombreux, mais de composition tout à fait semblable.

Les résultats ainsi obtenus permettent de connaître directement les variations interindividuelles et d'une manière indirecte, par les coefficients de fidélité, les fluctuations des individus. Ces résultats sont réunis dans le premier tableau:

¹ E. SCHREIDER, *Biotypologie* 13, 20 (1952); *Nature* 171, 339 (1953). — M. SAINT-SAENS et E. SCHREIDER, *Biotypologie* 18, 215 (1957).

Tableau I

Groupe et intervalle	Analyse	N	M	σ	V	r	P
Sodium							
1-2 jours	{ 1 ^{re}	77	144,89	3,39	2,33 }	0,29	0,01
	{ 2 ^e	77	145,58	3,21	2,20 }		
1-2 semaines	{ 1 ^{re}	32	145,98	3,96	2,71 }	-0,10	0,10
	{ 2 ^e	32	146,54	4,55	3,10 }		
Calcium							
1-2 jours	{ 1 ^{re}	67	4,92	0,21	4,34 }	0,44	0,01
	{ 2 ^e	67	4,87	0,21	4,24 }		
1-2 semaines	{ 1 ^{re}	24	4,88	0,22	4,52 }	0,38	0,05
	{ 2 ^e	24	4,89	0,19	3,94 }		
Potassium							
1-2 jours	{ 1 ^{re}	73	4,42	0,39	9,03 }	0,33	0,01
	{ 2 ^e	73	4,36	0,35	7,94 }		
1-2 semaines	{ 1 ^{re}	32	4,39	0,42	9,61 }	0,12	0,10
	{ 2 ^e	32	4,45	0,36	8,14 }		

N = nombre de sujets, M = moyenne en milliéquivalents par litre, σ = écart quadratique, V = coefficient de variation relative (σ/M), r = coefficient de fidélité (corrélation entre les résultats de deux déterminations successives faites sur les mêmes individus), P = seuil de signification de r en termes de probabilité. Technique: pour Na et K, spectrophotomètre à flamme, pour Ca, dosage par l'ériochrome.

Pour chaque électrolyte les quatre séries d'analyses livrent des moyennes cohérentes, dont les différences ne dépassent pas celles qu'on observe d'habitude entre deux populations semblables. Les paramètres de dispersion, plus influencés par les erreurs d'échantillonnage, sont moins stables. Néanmoins, ils dénotent un ordre très précis: les variations *interindividuelles* sont réduites – mais pas du tout négligeables – pour le sodium, assez importantes pour le calcium, fortes pour le potassium. Rien qu'à ce point de vue il est impossible de maintenir le concept des fluctuations infimes, pouvant être ignorées en pratique.

Quant aux variations *intraindividuelles*, les coefficients de fidélité attestent la grande inconstance du sodium et du potassium. Médiocres, tant que les prises de sang sont pratiquées avec un court intervalle de temps, les corrélations s'évanouissent dès qu'on porte l'intervalle à une ou deux semaines. Elles se présentent alors comme des résidus de calculs, à tel point que pour le sodium la corrélation devient négative ce qui, dans le contexte, n'a aucun sens.

Pour le calcium la situation est un peu différente. Les coefficients sont plus élevés et si, pour l'intervalle d'une ou deux semaines, la corrélation cesse d'être significative, il est possible, malgré tout, qu'elle soit réelle. Néanmoins, ici encore l'instabilité de l'individu apparaît considérable. Un simple raisonnement suffit pour s'en convaincre.

Avec un court intervalle de temps le calcium donne un coefficient de fidélité r égal à 0,44. Il s'ensuit que $\sqrt{1-r^2} = 0,89$ de telle sorte qu'un pronostic basé sur les résultats

d'une première analyse n'améliore que d'onze pour cent une prévision faite au hasard (1-0,89). Il est en somme impossible de prévoir raisonnablement d'après les résultats de la première analyse ceux de la deuxième. A plus forte raison, ceci s'applique au sodium et au potassium dont les coefficients de fidélité sont plus bas.

Il importe de souligner que les différences entre deux échantillons de sang prélevés à des dates successives chez un seul et même individu peuvent dépasser largement celles qu'on trouve parfois entre les résultats de deux analyses indépendantes pratiquées sur un seul et même échantillon de sang. Autrement dit, les fluctuations intraindividuelles débordent la marge des erreurs expérimentales².

Il n'est pas surprenant que des caractères très instables ne soient pas liés par des intercorrélations. C'est ce que montrent les chiffres du *deuxième* tableau:

Tableau II

Variables	N	r
Na ⁺ et K ⁺	72	0,12
Na ⁺ et Ca ⁺⁺	68	0,09
Ca ⁺⁺ et K ⁺	67	0,01

On estime parfois que si deux *taux* biochimiques présentent des fluctuations imprévisibles, leurs *rapports* obéissent au principe de la «fixité». Cependant, nous avons eu l'occasion de montrer, sur un groupe d'hommes

² M. SAINT-SAENS et E. SCHREIDER, Biotypologie 18, 215 (1957).

Tableau III

Rapport	Analyse	N	M	σ	V	r	P
Na ⁺ /Ca ⁺⁺	1 ^{re}	61	29,54	1,41	4,77	0,25	0,05
	2 ^e	61	29,89	1,55	5,18		
Na ⁺ /K ⁺	1 ^{re}	61	331,17	30,72	9,27	0,48	0,01
	2 ^e	61	336,81	27,24	8,08		
Ca ⁺⁺ /K ⁺	1 ^{re}	61	11,53	1,08	9,36	0,45	0,01
	2 ^e	61	11,19	1,04	9,20		

Les rapports ont été établis entre Na⁺, Ca⁺⁺, et K⁺ exprimés en milliéquivalents/l. L'intervalle entre les analyses successives est de un ou deux jours.

adultes comme sur une série de chiens, que la variation interindividuelle du rapport K^+/Ca^{++} est très grande dans le sérum, et encore plus forte dans le liquide céphalorachidien³. A présent nous sommes en mesure de produire quelques résultats concernant aussi les variations intraindividuelles. Ils figurent dans le troisième tableau.

Les coefficients de variation relative montrent que les fluctuations interindividuelles sont encore plus grandes pour les rapports que pour les taux de Na^+ , Ca^{++} , et K^+ . Ici encore nous sommes bien loin de la «fixité». La variabilité intraindividuelle reste considérable, pour Na^+/Ca^{++} le coefficient de fidélité est faible et n'atteint pas un seuil de signification satisfaisant. Néanmoins, pour les deux autres rapports les corrélations sont plus fortes et significatives. Notamment, Na^+/K^+ apparaît plus stable que Na^+ et K^+ . Il n'en reste pas moins vrai qu'une fois de plus une prévision basée sur l'analyse d'un échantillon de sang demeure problématique.

Toutefois, l'exemple qu'on cite d'habitude pour souligner la constance remarquable du milieu intérieur est celui du pH. Il est difficile de comprendre comment une illusion pareille a pu prendre naissance. Le pH n'est pas une réalité physico-chimique, mais une notation conventionnelle, choisie pour des raisons de commodité. Dans sa formule figure un logarithme qui supprime toute variation, ou peu s'en faut. Si on opère sur le pH on trouve, par nécessité mathématique, une variation relative pratiquement négligeable:

Tableau IV⁴

	N	M	σ	V
pH, sang artériel	50	7,410	0,017	0,22
pH, sang veineux	50	7,370	0,015	0,20

Cependant il s'agit là d'un artefact. Si de la notation arbitraire nous revenons à la concentration en ions hydrogène, le tableau V change du tout au tout.

La variation relative de $[H^+]$ est supérieure à celle du sodium plasmatique. Pour donner une image familière, on peut dire qu'elle est de même ordre que la variation de la taille humaine (le coefficient de variation relative est un pur nombre, indépendant des unités de mesure: il autorise donc une comparaison par ille).

Le rôle de l'homéostasie ne consiste visiblement pas dans le fait de maintenir les fluctuations dans des limites si étroites qu'on pourrait les tenir pour «négligeables». Ce rôle, sans doute, est plus compliqué et il est permis de croire que les régulations physiologiques assurent, entre autres, des adaptations graduelles à des conditions changeantes. Nous espérons pouvoir illustrer cette hypothèse par des données concernant la régulation thermique qui, dans l'enchaînement des idées, apparaît comme la source première de la conception fixiste.

³ E. SCHREIDER, *Biotypologie* 13, 20 (1952).

⁴ Les chiffres du tableau IV (hommes adultes) sont empruntés à E. L. GIBBS, L. F. NIMS, W. C. LENNOX et F. A. GIBBS, *J. biol. Chem.* 144, 325 (1942). Nous n'y avons ajouté que les coefficients de variation relative calculés sur les paramètres publiés.

Cette conception a exagéré dans une certaine mesure l'importance du milieu intérieur, trop souvent assimilé au sang qui, en règle générale, ne vient pas en contact avec les éléments cellulaires. Elle a amoindri le rôle de la cellule, en lui attribuant une fonction en quelque sorte passive, à la merci des liquides organiques: «le sang pour caractéristique de maintenir sa composition chimique et ses propriétés physiques très constantes; de ce fait, les conditions du fonctionnement des cellules sont parfaitement fixes»⁵.

Il semble, cependant, que la régulation du taux cétonique dans les organes, tout en étant coordonnée, ne dépend pas des variations du taux cétonique dans le sang⁶. Une conclusion analogue s'impose, sans doute, et ce qui concerne les rapports entre le potassium intracellulaire et le potassium plasmatique. On pourrait d'ailleurs multiplier les exemples. Tout ceci risque de remettre en cause la portée des analyses expérimentales ou cliniques du sang. A ce point de vue, une généralisation serait, sans doute, abusive. Mais l'opportunité d'une large revision nous semble évidente.

E. SCHREIDER

Laboratoire d'Anthropologie Physique, Paris, 9 août 1957.

Summary

Interindividual variability of plasma sodium, calcium and potassium is fairly high. Their reliability is low and intraindividual variability is so important that we cannot reasonably estimate, by the results of the first analysis, the results of the second one, even if the interval between taking blood samples does not exceed two days. The constancy of blood pH, usually quoted in order to illustrate the fixity of the internal environment, is a mathematical artefact, as the variability is practically suppressed by the logarithm introduced in the pH formula. If instead of pH we take the hydrogen ion concentration, we find in venous and arterial blood a relative interindividual variation which cannot be neglected. Like some previously published data, these findings show that the traditional idea of the 'practically constant' internal environment is misleading.

⁵ B. A. HOUSSAY, *Physiologie humaine* (Paris 1950), p. 2.

⁶ E. SCHREIDER, *Exper.* 12, 315 (1956).

PRO EXPERIMENTIS

A Method for the Electrical Stimulation and Registration of the Contractions of an Isolated Skeletal Muscle of *Periplaneta americana* L.

During research on the mode of action of iodo-, bromo- and chloroacetic acid on insects¹, it was considered

¹ S. BETTINI and M. BOCCACCI, *Sci. sci. Pap. Ist. sup. San.* 1, 155 (1956). - G. NATALIZI, S. BETTINI, and M. BOCCACCI, *R. C. Ist. sup. San.* 20, 410 (1957). - M. BOCCACCI, G. NATALIZI, and S. BETTINI, *R. C. Ist. sup. San.* (in press).

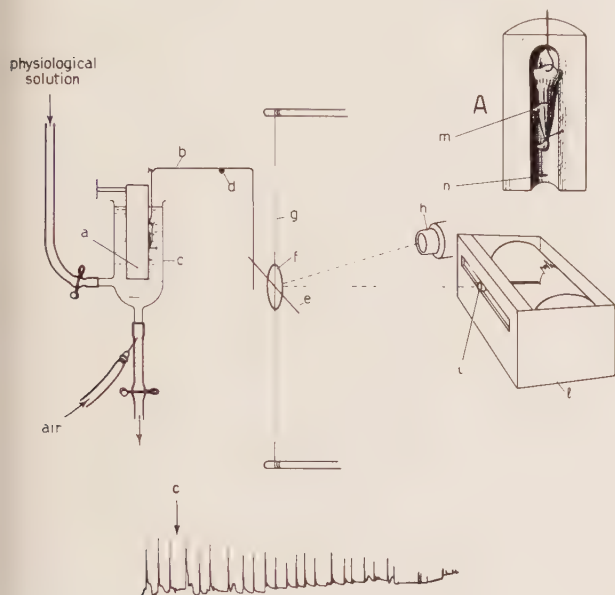
Tableau V

	N	M	σ	V	r
$[H^+]$, sang artériel	49	$3,763 \times 10^{-8}$	$0,131 \times 10^{-8}$	3,48	0,83
$[H^+]$, sang veineux	49	$4,260 \times 10^{-8}$	$0,131 \times 10^{-8}$	3,07	

r = corrélation entre $[H^+]$ artériel et $[H^+]$ veineux.

necessary to find a simple and rapid method for inducing contractions on an isolated insect muscle in contact with different substances in an aerated bath. Since the problem presented several difficulties for its solution, the authors think it worth while to publish the description of the method used.

SOLF² in 1931 recorded on a chimograph the contractions of flexor and extensor muscles of *Decticus* leg, following direct electrical stimulation of the muscles. KRAEMER³ in 1932, PRINGLE⁴ in 1939, DRESDEN⁵ in 1956 and HARLOW⁶ (in press) set up various chimograph recording devices for the contractions of insect leg muscles, following electrical stimulation of the nerve trunk. HEIDERMANNS⁷ in 1931 and CREMER⁸ in 1934, using the same technique, recorded wing muscle contractions on a chimograph. GODEAUX⁹ in 1949, FRITSCH and KRUPP¹⁰ in 1952 and ERDMANN¹¹ in the same year worked on abdominal muscle preparations.



(Upper) Schematic representation of the apparatus. (A) Detail of the muscle preparation on the paraffin support. (Lower) Effect of iodoacetic acid on the isolated trochanter extensor muscle of *P. americana* following electrical stimulation. (↓c) Iodoacetic acid 1:5000.

None of the above-mentioned methods possess the advantage of a rapid substitution of the solution in which the muscle is immersed, as is normally practiced with vertebrate muscle preparations. This was absolutely necessary for the present investigation; moreover, it was considered useful to be able to stimulate the muscle directly without dissection and stimulation of the corresponding nerve.

Initially, chemical stimulation of the muscle was attempted but no muscle response was ever obtained following the action of KCl, BaCl₂ and acetylcholine.

It was, therefore, deemed necessary to stimulate the muscle electrically in order to produce its contraction, as described in the following method.

Method.—The authors have experimented on *Periplaneta americana* from their laboratory breeding. A metathoracic leg is cut at the level of the trochantine. The exoskeleton of the coxal ventral face is removed and so are the muscles of the superficial layer (135e; 137; 138; 139b and c)¹² uncovering, in so doing, the extensor muscle of the trochanter (135, branches a and c which form a single bundle at the tendon level).

Lifting the extensor muscle slightly, the deep layer muscles (136; 140b, c, d; 139a) are also removed, without however interrupting the exoskeleton covering the coxal dorsal face (which is the side laying on the paraffin support) (Fig. a). A thin varnished copper wire is then passed through the trochanter and hooked to the horizontal lever (b). The positive electrode (m) is bent so as to be in slight contact with the muscle (m), the negative electrode (n) being free in the bath. The preparation is then lowered into an aerated bath containing LÉVY's¹³ physiological solution at room temperature. The right angle lever to which the muscle is suspended turns a galvanometer mirror (f) which reflects a beam of light. The beam's deflections are registered on paper by a photoelectric cell (i) 'Nachlaufschreiber' recorder (l)¹⁴. The voltage used was 6 V and the frequency which gave the best results was 30 cycles/s. Substances were added to the bath through a syringe.

The graph in Figure c shows the muscle preparation response to 2-s electrical stimuli repeated at 2 min intervals. The response of the extensor muscle is quite constant. (In one case, the muscle was stimulated for more than 3 h without the response showing modifications.) Following the addition of iodoacetic acid at the concentration of 1:5000, the muscle response decreases steadily in amplitude and the tonus is increased. After about 30 min, the muscle goes into contracture (Lundsgaard's effect).

It is believed that the advantages of the described technique are: (a) the preparation may be easily set up; (b) the whole muscle surface may be placed in contact with substances added to the saline bath; (c) a maximal amplification and a permanent and accurate registration on paper of the muscle contractions may be obtained*.

S. BETTINI, G. NATALIZI, and
M. BOCCACCI

Department of Parasitology, Istituto Superiore di Sanità,
Rome (Italy), October 21, 1957.

Zusammenfassung

Eine einfache Methode der elektrischen Reizung eines isolierten Extensormuskels (vom Bein der Küchenschabe *Periplaneta americana* L.) wurde beschrieben. Die Methode eignet sich zum Studium des Einflusses von Giften.

² V. SOLF, Zool. Jb. Abt. Zool. 50, 175 (1931).

³ F. K. KRAEMER, Zool. Jb. Abt. Zool. 51, 321 (1932).

⁴ J. W. S. PRINGLE, J. exp. Biol. 16, 220 (1939).

⁵ D. DRESDEN, Nature 177, 835 (1956).

⁶ P. A. HARLOW, Ann. appl. Biol. (in press).

⁷ C. HEIDERMANNS, Zool. Jb. Abt. Zool. 50, 1 (1931).

⁸ E. CREMER, Zool. Jb. Abt. Zool. 54, 191 (1934).

⁹ J. GODEAUX, Physiol. comp. et Oecol. 1, 352 (1949).

¹⁰ H. FRITSCH and H. KRUPP, Arch. exp. Path. Pharmac. 214, 227 (1952).

¹¹ W. D. ERDMANN, Arch. exp. Path. Pharmac. 216, 576 (1952).

¹² C. S. CARBONELL, Smithsonian. misc. Coll. 107, 1 (1947). — D. DRESDEN and E. D. NIJENHUIS, Proc. Kon. Nederl. Akad. Wetensch. Amsterdam [C] 56, 1 (1953).

¹³ R. LÉVY, C. R. Soc. Biol. 99, 1482 (1928).

¹⁴ Of the firm Dr. B. Lange, Berlin.

* We have just read the paper by F. BUCHTAL, T. WEIS-FOGH, and P. ROSENFALCK [Acta physiol. Scand. 39, 246 (1957)] who described an ingenious method for recording the contractions of an isolated flight muscle (locust) dipped in a saline bath.

DISPUTANDA

The Words 'Protist' and 'Protista'¹

Problems of nomenclature are often vitally connected with problems of experimental science. The field of experimental microbiology is being increasingly affected by concepts on the evolution of microorganisms. It is the application of such ideas to our experimental work that has led us to consider the following nomenclatural problem.

In recent years the word 'protist' and the group name 'Protista' have come to mean different things to two groups of workers. The confusion that inevitably arises from this fact impairs the usefulness of these terms. Since we feel that they will serve a valuable function if general agreement as to their meaning can be realized, we propose to describe and explain the area of disagreement and to suggest a solution.

In 1866, HAECKEL first used the term 'Protistenreich'² or 'Protista'³ for a 'kingdom' of primitive, mostly unicellular organisms, to be distinguished from 'Pflanzenreich', or 'Plantae' (= metaphytes + certain multicellular algae) and 'Thierreich', or 'Animalia' (= metazoa + certain protozoa). In the Protista, HAECKEL recognized eight 'Stämme' or phyla, which ranged from the 'Moneres'—later (1868) emended by him⁴ to 'Monera' (including bacteria along with some hypothetical and misinterpreted 'primitive' forms)—to 'Spongiae', or 'Porifera' (consisting of the sponges). Later, in 1894⁵, he elaborated his classification extensively, but the bacteria remained near the base of his phylogenetic tree of the Protista. Although the exact composition of the Protista has varied according to the worker, the group has, by and large, been treated by most in essentially the Haeckelian sense and has therefore included the bacteria. This is true, for example, for the German journal *Archiv für Protistenkunde*, which began in 1902—although it has, to be sure, tended to concentrate on the higher protists.

All would probably have been well, had it not been for the decision of COPELAND⁶ in 1938 to restrict the 'kingdom Protista' to primitive organisms above the level of the bacteria and blue-green algae and to segregate these latter two groups as a separate, more primitive 'kingdom Monera'. This 'kingdom' was accepted by STANIER and VAN NIEL⁷, and there has thus grown up a usage in which by 'protists' and 'Protista' is meant all unicellular (and some of the simpler multicellular) organisms except the 'monerans'⁸. In the mean-

time, COPELAND himself⁹ has abandoned the kingdom names Monera and Protista and replaced them with Mychota Enderlein, 1917, and Protoctista Hogg, 1860 respectively.

One of us (E.C.D.) has recently¹⁰ been using the words 'protist' and 'Protista' in the early (1938) sense of COPELAND; but we now feel that such restriction is ill-advised and accordingly urge the general acceptance of the words essentially in their Haeckelian sense (with certain minor modifications that increased knowledge might be expected to render inevitable). This does not mean, however, that we propose abandonment of the words 'moneran' and 'Monera'. Actually we hold that it would be useful to recognize three grades of protists and accordingly suggest the following nomenclature: *lower protists*, or *monerans* (bacteria and blue-green algae); *intermediate protists*, or *mesoprotists* (red algae); and *higher protists*, or *metaprotists* (all higher organisms except metazoa and metaphytes).

These groupings express what we feel to be successive basic advances in the evolution of primitive organisms, and we believe them to be monophyletic. Members of the first group are to be distinguished from all other living entities by the primitive nature of the nucleus (not lack thereof, as COPELAND¹¹ would have it). The second and third groups, although both possessing more highly organized nuclei of basically similar structure, are distinguished by the primary absence, in mesoprotists, and presence, in metaprotists (except where secondarily lost), of one to many complex flagella (or cilia) having a longitudinal fibrillar structure organized as a central pair of, and a peripheral ring of nine, fibrils, the ring sometimes secondarily multiplied, but almost always in nine groups¹². By present evidence, the bacterial and metaprotistan flagella are non-homologous, the latter being an invention of a progressive group of mesoprotists, now no longer (apparently) in existence.

E. C. DOUGHERTY and MARY BELLE ALLEN

Department of Physiology, School of Medicine, and Laboratory of Plant Physiology, Department of Soils and Plant Nutrition, University of California, Berkeley, September 16, 1957.

Résumé

Les auteurs estiment que l'on devrait employer les mots «Protiste» et «Protista» à peu près dans le sens originel de HAECKEL (1866) – c'est-à-dire pour l'ensemble Bactéries, Algues, Champignons, et Protozoaires – et ne pas en exclure ni les Bactéries ni les Algues bleues-vertes comme l'a fait COPELAND en 1938. Dans ces conditions, l'on peut distinguer trois catégories de Protistes: les *Monères*, ou *Protistes inférieurs* (Bactéries et Algues bleues-vertes), les *Mésoprotistes*, ou *Protistes intermédiaires* (Algues rouges), et les *Métaprotistes*, ou *Protistes supérieurs* (la plupart des Algues, les Champignons, et les Protozoaires).

¹ Contribution No. 1 from the Laboratory of Comparative Physiology and Morphology of the Kaiser Foundation. Studies that have brought about recognition of the need for clarification of the terms here considered are currently supported by Grant RG-5284 from the Division of Research Grants, National Institutes of Health, U.S. Public Health Service.

² E. HAECKEL, *Generelle Morphologie der Organismen*, 1. Bd. (Reimer, Berlin 1866), p. 203, 204.

³ E. HAECKEL, *Generelle Morphologie der Organismen*, 2. Bd. (Reimer, Berlin 1866), Tafel I.

⁴ E. HAECKEL, *Jena. Z. Med. Naturw.* 4, 64 (1868).

⁵ E. HAECKEL, *Systematische Phylogenie der Protisten und Pflanzen*, 1. Teil (Reimer, Berlin 1894).

⁶ H. F. COPELAND, *Quart. Rev. Biol.* 13, 383 (1938).

⁷ R. Y. STANIER and C. B. VAN NIEL, *J. Bact.* 42, 437 (1941).

⁸ T. L. JAHN and F. F. JAHN, *How to know the Protozoa* (W. C. Brown Co., Dubuque, Iowa 1949). – P.-P. GRASSÉ, *Traité de zoologie*, tome 1, premier fascicule (Masson & Cie., Paris, p. 1 1952). – E. C. DOUGHERTY, *System. Zool.* 4, 145 (1955); *J. Protozool.* 3 (Suppl.), 11 (1956).

⁹ H. F. COPELAND, *Amer. Nat.* 81, 340 (1947); *The classification of lower organisms* (Pacific Books, Palo Alto, California 1956).

¹⁰ E. C. DOUGHERTY, *System. Zool.* 4, 145 (1955); *J. Protozool.* 3 (Suppl.), 11 (1956).

¹¹ H. F. COPELAND, *Quart. Rev. Biol.* 13, 383 (1938); *Amer. Nat.* 81, 340 (1947); *The classification of lower organisms* (Pacific Books, Palo Alto, California 1956).

¹² J. R. G. BRADFIELD, *Symposia of the Society for Experimental Biology*, No. IX (University Press, Cambridge 1955), p. 306.

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

Uncoupling of the Disorder of Carbohydrate Metabolism from Fat Metabolism in Experimentally-produced Diabetes in Baboons (*Papio ursinus*)

By J. GILLMAN, CHRISTINE GILBERT, E. EPSTEIN¹, and J. C. ALLAN²

The object of this communication is to report the preliminary results of various endocrine ablations and endocrine substitution therapy on the fat and carbohydrate metabolism of the baboon, as measured by the blood glucose and serum lipids. The experimental procedures and the number of baboons used for each experiment are shown in the Table.

Complete pancreatectomy in the baboon produces the classical picture of diabetes including hyperglycaemia, glycosuria, elevation of all the lipid fractions and ketosis. These disturbances of fat and carbohydrate metabolism can be efficiently corrected by the administration of insulin (Experiments 1, 2, 3 in the Table).

The administration of thyroxine to insulin-treated, depancreatized baboons is accompanied by a reduction in the total cholesterol while the total lipids remain unaffected (Experiment 4 in the Table). If insulin treatment is suspended for 4 days but thyroxine continued, all the lipid fractions rise and particularly the lipid phosphorus which shows a 2 to 2½ fold elevation over and above that occurring in depancreatized baboons not treated with thyroxine and not receiving insulin for a comparable period (compare Experiment 5 with Experiment 3 in the Table). Moreover, the blood ketones are 2-4 times as high in the thyroxine-treated, insulin-deprived depancreatized baboons as in depancreatized baboons not receiving thyroxine. The administration of insulin to the thyroxinized, depancreatized baboons results in a return to normal of all the lipid fractions as well as the ketones within 3 to 5 days.

Removal of the hypophysis from depancreatized baboons (D-H baboons) markedly increases the sensitivity to insulin, as reported in other animals, and improves the physical condition of the baboons. However, the disorder in carbohydrate metabolism persists and, in the absence of insulin, the resting blood sugar, at the end of a 16-h fast, ranges from 500 to 600 mg%. The D-H baboon thus behaves like the D-H dog and cat described by LONG and LUKENS³.

During a 7-10 day period of insulin deprivation, the D-H baboons remain in good physical condition in con-

trast to the depancreatized baboons which become ill and lose their appetite within 4-6 days after the last injection of insulin. Furthermore, in D-H baboons not receiving insulin, the total serum lipids rise slightly due to a 1½ fold increase in total cholesterol and lipid phosphorus but there is no ketonaemia or ketonuria (Experiments 6, 7 in the Table).

After a three-week course of cortisone (1 mg/kg body weight/day) in conjunction with insulin (Experiment 8) followed by a 4 to 5 day period of withdrawal of insulin, a D-H baboon showed a rapid rise in blood sugar, total lipids, total cholesterol and lipid phosphorus to levels similar to those occurring in a depancreatized baboon with an intact pituitary but not receiving insulin for a comparable period (compare Experiment 9 with Experiment 3 in the Table). Unlike the depancreatized, insulin-deprived baboons, the ketones in the blood of the cortisone-treated, D-H baboon not receiving insulin did not exceed 2.8 mg% despite the fact that the total lipids reached a level of 1588 mg% (Experiment 9 in the Table). Cortisone significantly increased the insulin requirements of the D-H baboon but the baboon does not become insulin resistant.

The administration of thyroxine (0.2 mg/second day for 3 weeks) to one D-H insulin-treated baboon (Experiment 10) followed by a 4-day period of insulin withdrawal is unaccompanied by any change in the serum lipids or ketones although the blood sugar is greatly elevated (Experiment 11 in the Table). One insulin-treated D-H baboon received a 3-week course of cortisone (1 mg/kg body weight/day) followed by a 2-week course of cortisone and thyroxine (0.2 mg/second day) (Experiment 12). Thereafter, insulin was withdrawn but cortisone and thyroxine continued. At the end of the sixth day of insulin withdrawal, the total serum lipids rose to 2003 mg% and the blood ketones to 9.8 mg% (Experiment 13 in the Table).

Although the numbers of baboons used in some experiments are still too few to draw firm conclusions, nevertheless, if the experiments are examined as a whole, it is apparent that (1) removal of the hypophysis from depancreatized baboons fails to correct the disorder of carbohydrate metabolism but markedly alleviates the disturbance in fat metabolism. (2) The reappearance of the lipaemia in depancreatized-hypophysectomized baboons not receiving insulin following a course of treatment with cortisone indicates that an actively functioning adrenal cortex at least is essential for the lipaemia of the depancreatized, insulin-deprived baboon. (3) Thyroxine intensifies the lipaemia of the depancreatized-hypophysectomized baboon receiving cortisone thus emphasizing the role of the thyroid as well as the adrenal in the regulation of the serum lipid levels. (4) The ketonaemia of depancreatized baboons not receiving insulin disappears after hypophysectomy and cannot be restored to prehypophysectomy levels either by cortisone, thyroxine or by both these hormones administered simultaneously.

Ketonaemia in pancreatic diabetes in the baboon, therefore, can be dissociated from the hyperglycaemia and from the intense lipaemia.

¹ Departments of Physiology and Anatomy and Joint Nutrition Research Unit of the C.S.I.R. and of the University of the Witwatersrand, Johannesburg.

² Department of Surgery, University of the Witwatersrand, Johannesburg.

³ C. N. H. LONG and F. D. W. LUKENS, J. exp. Med. 63, 465 (1936).

Table showing the changes in the serum lipid fractions of the baboon following pancreatectomy and hypophysectomy and substitution therapy

Experiment No.	Number of baboons used	Operative procedure	Treatment	Total lipids mg%	Cholesterol mg%	Lipid phosphorus mg%	Total ketone bodies (in blood) mg%	Resting blood sugar* mg%
1	9	Controls (non-operated)	None	384-512	117-155	7.0-11.3	0.6-1.8	70-80
2	9	Pancreatectomy	insulin	285-458	94-156	5.6-9.6	0.8-3.2	102-588
3	9	Pancreatectomy	No insulin	1218-2184	218-780	12.3-34.6	13.2-113.2	363-588
4	3	Pancreatectomy	insulin + thyroxin	350-382	98-112	8.75-9.7	1.8-4.4	260-596
5	3	Pancreatectomy	No insulin + thyroxin	1927-2136	396-624	32.0-47.4	102-138	391-448
6	4	Pancreatectomy + hypophysectomy	insulin	384-455	141-186	9.5-12.5	0.02-3.0	170-588
7	4	Pancreatectomy + hypophysectomy	No insulin	423-567	185-251	10.5-15.3	2.0-5.4	519-666
8	2	Pancreatectomy + hypophysectomy	insulin + cortisone	406-448	178-189	8.1-12.1	2.0	519-627
9	1	Pancreatectomy + hypophysectomy	insulin + cortisone	1588	340	20.1	2.8	601
10	1	Pancreatectomy + hypophysectomy	insulin + thyroxin	435	100	6.05	1.0	197-324
11	1	Pancreatectomy + hypophysectomy	No insulin + thyroxin	437	126	5.95	1.6	510
12	1	Pancreatectomy + hypophysectomy	insulin + cortisone + thyroxin	831	292	13.75	2.6	150-247
13	1	Pancreatectomy + hypophysectomy	No insulin + cortisone + thyroxin	2003	544	27.6	9.8	666

* Blood sample collected at 9 a.m. 16 h after the last meal and after the last injection of insulin.

Investigations to elucidate the factors responsible for the ketonaemia in diabetic baboons are still in progress

Résumé

Après ablation de la glande pituitaire, le dérèglement du métabolisme des hydrates de carbone persiste tandis que l'intense lipémie est abolie. L'administration de la cortisone aux babouins pancréas- et hypophysectomisés privés d'insuline, rétablit la lipémie mais non la cétonémie.

Le dérèglement du métabolisme des hydrates de carbone dans les babouins diabétiques peut être dissocié de celui des lipides par un traitement approprié des glandes endocrines.

La cétonémie des babouins pancréas- et hypophysectomisés, contrairement à la lipémie, n'est pas rétabli par l'administration de la cortisone, thyroxin ou par une combinaison de ces hormones.

CONGRESSUS
GREAT BRITAIN

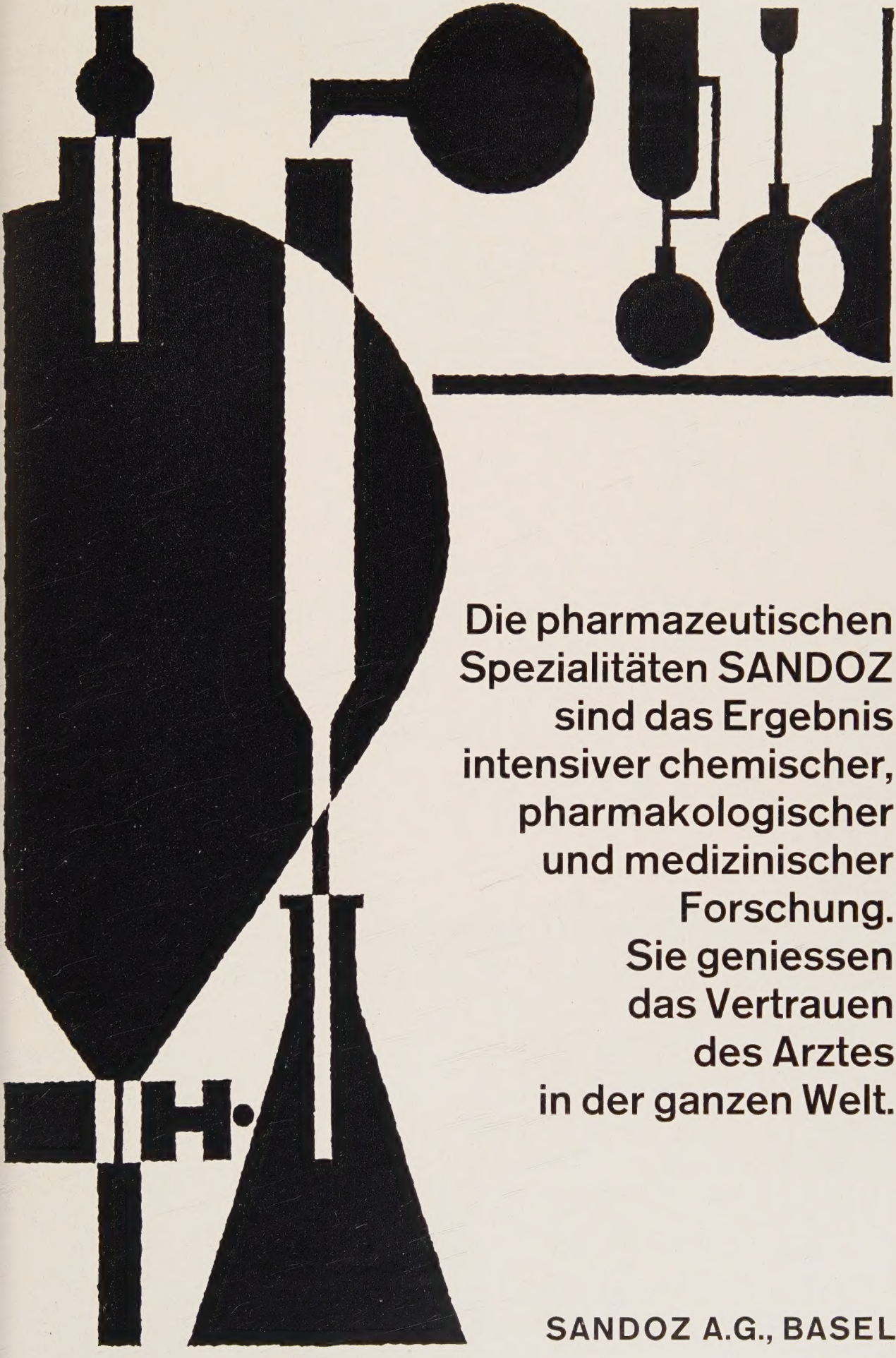
VIIth International Cancer Congress
London, July 6-12, 1958

The International Union against Cancer will shortly award a limited number of travel grants to facilitate young scientists to attend the 7th International Cancer Congress in London, July 6-12, 1958. Priority will be given to applicants under the age of 35, who do not yet hold senior appointments, but who have already made significant contributions to the cancer literature. These grants will cover part or all of the travel expenses from and to the country of residence, but will not include subsistence allowance. Application forms may be obtained from Dr. I. BERENBLUM (Chairman: Committee for Young Scientists, U.I.C.C.), The Weizmann Institute of Science, Rehovoth, Israel.

CONGRESSUS
CANADA

IXth International Botanical Congress
Montreal, August 19 to 29, 1959

The IXth International Botanical Congress will be held in Montreal, Canada, from August 19 to 29, 1959, at McGill University and the University of Montreal. The program will include papers and symposia related to all branches of pure and applied botany. A first circular giving information on program, accommodation, excursions, and other detail will be available early in 1958. This circular and subsequent circulars including application forms will be sent only to those who write to the Secretary-General asking to be placed on the Congress mailing list: Dr. C. FRANKTON, Secretary-General, IXth International Botanical Congress, Science Service Building, Ottawa, Ontario (Canada).



Die pharmazeutischen
Spezialitäten SANDOZ
sind das Ergebnis
intensiver chemischer,
pharmakologischer
und medizinischer
Forschung.
Sie geniessen
das Vertrauen
des Arztes
in der ganzen Welt.

SANDOZ A.G., BASEL

NOTICE

Chromatographically and electrophoretically pure products for chemical, biochemical, biological and clinical research:

A T P	Adenosin-Tri-Phosphoric acid ester
A D P	Adenosin-Di-Phosphoric acid ester
A M P	Adenosin-Mono-Phosphoric acid ester
D P N	Di-Phosphopyridin-Nucleotide (COZYMASE I)
T D P	Thiamin-Di-Phosphoric acid ester (COCARBOXYLASE)
T M P	Thiamin-Mono-Phosphoric acid ester (devoid of coenzymatic activity)
P 5 P	Pyridoxal-5-Phosphoric acid ester (CODECARBOXYLASE)
6 T A	DL-6-Thioctic Acid (DL-alpha-lipoic acid)

PURE NUCLEOTIDES, COENZYMES AND BIOLOGICALLY
ACTIVE

COMPOUNDS FOR EXACT BIOLOGICAL RESEARCH

For details and specification bulletins write to:

BIOCHEMICAL PRODUCTS DEPARTMENT
FARMOCHIMICA CUTOLO-CALOSI S.p.A.
NAPLES - ITALY

